

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**Corso di aggiornamento sull'Epatite da HCV
Diagnostics, epidemiologia, prevenzione e terapia**

**Istituto Superiore di Sanità
Roma, 24-25 settembre 1990**

a cura di M. Rapicetta e G. B. Rossi

Laboratorio di Virologia

Istituto Superiore di Sanità, Roma

Corso di aggiornamento sull'Epatite da HCV: Diagnostica, epidemiologia, prevenzione e terapia. Istituto Superiore di Sanità, Roma, 24-25 settembre 1990.

M. Rapicetta, G. B. Rossi (Ed)

Set 90, 106 p. Rapporti ISTISAN 90/21 (In Italiano)

Si presentano alcune relazioni per il corso di aggiornamento sull' Epatite da HCV. L'organizzazione di tale corso è stata stimolata dalla notevole mole di dati epidemiologici, virologici e chimici prodotti, relativamente a questo nuovo virus dell'epatite, in tempi molto brevi e successivamente alla recente identificazione del genoma virale e alla messa a punto di un saggio sierologico per il rilevamento di alcuni anticorpi specifici. Il corso è stato organizzato in collaborazione con l'Associazione Italiana per lo studio del fegato; è rivolto a ricercatori ed operatori sanitari impegnati nelle ricerche sulla diagnostica, terapia e prevenzione delle epatiti virali e si propone di fare il punto sullo stato delle conoscenze relative agli aspetti biologici e sociali inerenti all'infezione da virus dell'Epatite C, di valutarne le problematiche aperte e di discutere possibili schemi di divulgazione dell'informazione.

Parole chiave: Formazione, Infezione, Virus Epatite C.

Istituto Superiore di Sanità, Rome (Italy)

Up-dating course on Hepatitis C virus: Diagnosis, epidemiology, prevention and therapy. Istituto Superiore di Sanità, Rome, September 24-25, 1990.

M. Rapicetta, G. B. Rossi (Eds)

Sep 90, 106 p. Rapporti ISTISAN (ISTISAN Reports) 90/21 (In Italian)

The main subjects of the course on the Hepatitis C virus (HCV) infection are presented. The course was prompted by the large amount of virological, epidemiological and clinical information on this new hepatitis virus, shortly after the identification of the viral genome and the development of specific antibody serological assays. The course, organized by the Istituto Superiore di Sanità in collaboration with the Associazione italiana per lo studio del fegato (Italian Association for the Study of the Liver), is devoted to scientists operating in the University and in the Italian National Health System on the field of diagnosis, prevention and therapy of viral hepatitis. It is aimed at reviewing biological research data and evaluating future perspectives including social and information aspects.

Key words: Hepatitis C virus, Infection, Training.

INDICE

HCV: Aspetti virologici e diagnostici Tanzi E., Romanò L., Ciccaglione A.R., Rapicetta M., Zanetti A.R.	1
Aspetti epidemiologici dell'Infezione da virus della Epatite C Chiaromonte M., Stroffolini T.	11
Aspetti clinici e terapia dell'Epatite virale C Colombo M., Donato M.F., Rumi M.G., Del Ninno E.	46
Epatite C e trasfusione De Stasio G.	67
Infezione da HVC: problemi attuali e prospettive Bonino F.	94

HCV: ASPETTI VIROLOGICI E DIAGNOSTICI

Tanzi E., Romano' L., Ciccaglione A.R.*, Rapicetta M.* ,
Zanetti A.R.

Istituto di Virologia, Università di Milano

* Laboratorio di Virologia

Istituto Superiore di Sanità

L'epatite virale può essere causata da diversi virus epatotropi quali il virus dell'epatite A (HAV), dell'epatite B (HBV), dell'epatite delta (HDV) e da due o forse più agenti associati all'epatite nAnB, nonché da una serie di virus epatitici "minori" (EBV, CMV, Herpes virus, virus della febbre gialla, ecc.) che però solo occasionalmente sono causa di malattia epatica. Recentemente sono stati almeno parzialmente caratterizzati due virus associati alle epatiti nAnB: il virus dell'epatite E (HEV) e quello dell'epatite di tipo C (HCV).

HEV. Il virus dell'epatite di tipo E (1) viene trasmesso principalmente per via feco-orale ed è, assieme al virus dell'epatite A, il maggiore responsabile di epidemie di epatite da alimenti, in particolare di origine idrica. L'HEV è endemico in India, Pakistan, Cina, nel Sud Est Asiatico, in Unione Sovietica, nel Nord Africa ed in alcuni Paesi dell'America Latina dove il virus è responsabile di ricorrenti epidemie che coinvolgono, in particolare, i giovani adulti. Clinicamente l'epatite E presenta un periodo di incubazione di circa 4 settimane, l'escrezione virale precede il rialzo delle transaminasi e la malattia di solito guarisce. Tuttavia, quando l'epatite è contratta in gravidanza può decorrere in modo estremamente grave, con tassi di letalità che raggiungono il 20-39% (2-7). Analogamente a quanto già noto per l'epatite A, non esistono portatori del virus E. Il virus dell'epatite E è costituito da una molecola di RNA ad elica singola e polarità positiva, racchiusa da un capside proteico delle dimensioni di circa 32-34 nm ed è classificabile tra i Calicivirus, agenti generalmente responsabili di gravi forme di diarrea (Tab.1).

HCV. Il virus dell'epatite di tipo C viene trasmesso, analogamente al virus dell'epatite B (HBV), per via parenterale; meno efficienti di quanto noto per l'HBV sembrano invece essere la via sessuale e verticale/perinatale, almeno nei soggetti sani non immunocompromessi. Da studi sieroepidemiologici recentemente condotti emerge che il virus dell'epatite C è coinvolto in almeno il 70-90% delle epatiti nAnB a trasmissione parenterale e nel 60-80% delle

cosiddette epatiti nAnB sporadiche, criptogenetiche o "community acquired". Per molti anni il virus dell'epatite C ha eluso ogni tentativo di identificazione, favorito dalla scarsa viremia, dal modesto potere immunologico e dall'assenza di colture cellulari permissive per la sua replicazione in vitro.

Le ricerche iniziali di caratterizzazione dell'HCV sono state condotte principalmente da Bradley et al presso il CDC di Atlanta dove studi di trasmissione sperimentale nello scimpanzè hanno evidenziato che l'epatite nAnB è causata da un agente infettivo con un diametro di 50-60 nm sensibile ai solventi organici e provvisto quindi di involucro lipoproteico (8,9) (Tab.2).

Sulla base delle dimensioni e della presenza dell'involucro lipidico si è pensato che questo virus potesse essere classificato nell'ambito della famiglia dei Togavirus (8-10). Come noto i virus appartenenti a questa famiglia sono costituiti da un nucleocapside circondato da un involucro lipidico contenente glicoproteine che si proiettano all'esterno della membrana sotto forma di spicole. Il genoma è costituito da una molecola di RNA a singola elica che può funzionare da mRNA, quindi a polarità positiva. Nel corso dell'infezione il virus entra nella cellula tramite endocitosi dando origine a vescicole citoplasmatiche. All'interno di queste, il basso pH attiva le glicoproteine dell'involucro virale, favorendo la fusione di quest'ultime con la membrana delle vescicole e successiva liberazione del nucleocapside virale nel citoplasma. Alla fine del ciclo di replicazione i nucleocapsidi neoformati gemmano sulla superficie cellulare a livello di quelle zone della membrana dove sono state inserite le glicoproteine da virus. Nei Flavivirus, considerati inizialmente come un sottogruppo dei Togavirus, ma oggi una famiglia distinta a causa delle differenze nell'organizzazione genomica, il processo di gemmazione avviene a livello di membrane intracellulari. Molti dei Togavirus e dei Flavivirus sono Arbovirus, cioè parte del loro ciclo naturale coinvolge la crescita in artropodi. In un recente studio, Fagan et al (10) hanno rilevato, in pazienti con epatite nAnB, la presenza di particelle di morfologia virale (60-70 nm) con involucro provvisto di proiezioni superficiali e gemmanti in vacuoli citoplasmatici. Le caratteristiche ultrastrutturali di queste particelle ricordano quelle di un Arbovirus, il Rift Valley fever virus, un'ulteriore prova questa che il virus osservato nei casi di epatite nAnB presenta delle somiglianze con gli Arbovirus. Tuttavia, la trasmissione tramite un vettore non è stata a tutt'oggi ancora dimostrata.

Caratterizzazione molecolare. L'identificazione molecolare dell'HCV è dovuta a Houghton e coll. della Chiron Corporation di Emeryville che hanno tentato un approccio del

tutto nuovo per la caratterizzazione del virus (11). Il virus è stato concentrato mediante ultracentrifugazione da plasma derivante da uno scimpanzè sperimentalmente infettato. L'acido nucleico recuperato è stato trascritto, mediante l'ausilio di una trascrittasi inversa, in cDNA. Il clonaggio del cDNA nel fago λ gt11 ha successivamente permesso la costruzione di una libreria di sequenze di DNA. Ciò favorito dal fatto che il fago λ gt11 permette non solo la propagazione di sequenze estranee al fago stesso, ma anche la loro espressione in cellule batteriche, grazie alla presenza del gene della β -galattosidasi di E.coli e degli elementi per la sua espressione. Il DNA estraneo può essere così inserito nell'unico sito ECORI posto all'estremità carbossiterminale del gene per la β -galattosidasi portando all'espressione di una proteina di fusione. Il vettore geneticamente modificato è stato utilizzato per infettare E. coli. Le proteine prodotte dalle diverse colonie batteriche sono state saggiate mediante test immunodiagnostici contro anticorpi presenti in scimpanzè o in individui convalescenti da epatite nAnB allo scopo di identificare un antigene virale. Lo screening di oltre un milione di cloni ha portato al riconoscimento di una sola colonia, produttrice una proteina in grado di reagire con il siero di un paziente con epatite nAnB cronica che si presumeva contenesse anticorpi per il virus. Da questo clone è stato estratto un frammento di genoma virale di 155 pb, utilizzato come sonda di ibridazione per un successivo screening della libreria originale di cDNA. E' stata così possibile l'identificazione di un ulteriore clone di 353 pb (clone 81) con sequenza omologa a quella del frammento di origine virale di 155 pb. Questo tratto di DNA clonato presentava le caratteristiche di: 1) non ibridare con DNA umano o di scimpanzè; 2) non ibridare con DNA derivato da plasma o fegato infetti; 3) ibridare con RNA derivato da fegato infetto; 4) analogia di una delle due catene con un RNA a singola elica di circa 10000 pb, con poly A, presente nel "pellet" ottenuto da plasma infetto.

Da questi dati è stato possibile dedurre che i due cloni, 5-1-1 e 81, non derivano dall'ospite ma dal genoma virale. Tale agente responsabile dell'epatite nAnB, è stato per la prima volta denominato virus dell'epatite C (HCV). Il genoma virale è costituito da una molecola di RNA a singola elica di circa 10000 pb e a polarità positiva. L'esame della sequenza nucleotidica del clone 81 e di altri due cloni sovrapposti ha rilevato la presenza di un'unica "ORF" ed un'organizzazione molecolare simile a quella dei Togavirus e dei Flavivirus (12). Nel genoma dei Togavirus i geni per le proteine non-strutturali sono posti alla estremità 5' e vengono tradotti in un'unica poliproteina che viene successivamente processata, quelli strutturali sono disposti nel segmento 3' terminale dell'RNA genomico,

ma vengono espressi a partire da un mRNA subgenomico anche loro sotto forma di una poliproteina. Nei Flavivirus la disposizione è inversa, in quanto i geni strutturali precedono quelli non strutturali ed inoltre tutti i prodotti virali derivano da un'unica poliproteina. La somiglianza del genoma del virus C con quella dei Flavivirus (in particolare il virus della febbre gialla) è schematizzata in Figura 1.

Confronto tra diversi isolati virali mediante analisi delle sequenze. Recentemente Houghton et al hanno estratto l'RNA dal plasma di un donatore giapponese implicato in un caso di epatite nAnB post-trasfusionale (13), sottoponendolo poi ad una reazione di trascrizione inversa. Il cDNA ottenuto, di 583 nucleotidi, è stato amplificato mediante PCR utilizzando oligonucleotidi primers specifici per HCV. La sequenza ha rilevato una omologia del 79.8% a livello nucleotidico e del 92.2% a livello aminoacidico rispetto all'isolato originale da scimpanzè.

Maeno et al (14) hanno ottenuto un clone di cDNA di 269 pb chiamato C8-2, da RNA estratto da siero umano con sospetta infezione da virus nAnB. Gli anticorpi contro la proteina sintetizzata da questo clone sono stati trovati nel 40% dei sieri di pazienti con epatite cronica nAnB. Choo e coll. hanno invece messo in evidenza anticorpi verso la proteina C100-3 (quella ottenuta dal primo isolato di HCV) nel 70% dei pazienti cronici nAnB (11,15). E' pertanto probabile che il clone C8-2 e quelli iniziali da scimpanzè derivino o da differenti virus o più verosimilmente da differenti regioni di un comune gene virale. La sequenza del clone C8-2 risultata inoltre diversa da quella di due cloni di cDNA (isolati da Arima et al) (16-17).

Miller e Purcell (18), mediante analisi al computer, hanno ricercato sequenze virali che mostrassero una omologia significativa con la poliproteina dell'HCV. I risultati ottenuti hanno dimostrato che la suddetta proteina presenta omologia con la proteina NS3 del virus dengue tipo 2 CARMV, un virus delle piante appartenente alla famiglia dei Carmovirus. Altre regioni della poliproteina dell'HCV mostrano omologia con la regione NS3 dei Flavivirus e con regioni corrispondenti delle poliproteine dei Pestivirus e dei Potyvirus delle piante. Questi dati suggeriscono pertanto che l'HCV potrebbe essere correlato sia con virus animali, come i Flavivirus e Pestivirus, sia con virus delle piante, costituendo un possibile legame evolutivo tra questi due gruppi di agenti.

Test di screening per la determinazione di anti-HCV.

L'espressione in lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) di un epitopo dominante dell'HCV ha fornito il substrato antigenico per allestire test immunodiagnostici per la determinazione di anticorpi anti-HCV (19). L'antigene da DNA

ricombinante (C-100-3) presente sulla fase solida del test Elisa attualmente in commercio (Ortho Diagnostics), è composto da 363 aminoacidi derivati dalle regioni non strutturali (NS3 e NS4) del virus, fusi con 154 aminoacidi della superossido dismutasi umana (SOD) e 10 aminoacidi "linkers" (Fig.2). Il test per la ricerca degli anticorpi anti-HCV si svolge in tre diverse fasi: a) aggiunta del campione (siero o plasma) diluito 1:10 e incubazione per 1h a 37°C; b) aggiunta, dopo lavaggio, di un anticorpo monoclonale di coniglio anti-gammaglobuline umane marcato con perossidasi; c) aggiunta, dopo lavaggio, del substrato cromogeno (OPD in presenza di acqua ossigenata). La presenza di anti-HCV viene rivelata mediante reazione colorimetrica dopo aver bloccato la reazione enzimatica con acido solforico. E' possibile con questo test ottenere delle reazioni falsamente positive teoricamente attribuibili a: a) ipergammaglobulinemia; b) cross-reattività con altri Flavivirus; c) presenza di anticorpi in grado di reagire con le proteine del microrganismo in cui l'antigene ricombinante è stato prodotto (*Saccaromyces cerevisiae* o *Escherichia coli*); d) presenza di anticorpi contro la proteina di fusione (SOD). Il numero dei falsi positivi varia notevolmente in funzione della conservazione dei sieri (possibile aumento di false reazioni a seguito di ripetuti scongelamenti/congelamenti, ecc.) e della prevalenza degli anticorpi anti-HCV nella popolazione studiata. A questo riguardo, per il calcolo dei valori predittivi di un test, più bassa è la prevalenza degli anti-HCV attesa, più elevata è la percentuale ottenuta di risultati falsi positivi.

E' pertanto necessario confermare le reattività anti-HCV specialmente quando riscontrate in soggetti a basso rischio di infezione da HCV, come i donatori di sangue (prevalenza attesa attorno all'1%), con test di conferma.

Test di conferma.

Idealmente un test di conferma, rispetto a quello di screening, dovrebbe: a) essere stato allestito utilizzando una procedura diversa; b) avere una più elevata specificità e una sensibilità almeno analoga; c) utilizzare antigeni ricombinanti di origine diversa. Il primo test di conferma per anticorpi anti-HCV disponibile è il test RIBA-HCV (Chiron, Ortho Diagnostics). Si tratta di un test immunoenzimatico su striscia di nitrocellulosa sulla quale sono presenti tre antigeni ricombinanti: il C-100-3 prodotto in *S.cerevisiae*, il 5-1-1 prodotto in *E.coli*, entrambi legati con la SOD, nonché la SOD come controllo per determinare la presenza di eventuali anticorpi anti-SOD. Dopo incubazione della striscia con il siero in esame e lo sviluppo della reazione in modo analogo a quello descritto per il test Elisa, l'intensità e il tipo di bande prodotte vengono confrontate con quelle di controllo (Fig.3).

Un altro test di conferma attualmente disponibile (Abbott Labs) si basa sulla reazione di neutralizzazione. In questo caso, il campione ripetutamente anti-HCV positivo al test EIA viene incubato con la soluzione neutralizzante contenente l'antigene specifico. Il campione viene confermato positivo quando si ha una riduzione di almeno il 50% della assorbanza.

Significato dell'anti-HCV.

Gli anticorpi anti-HCV, prodotti contro una proteina non strutturale del virus sono indicatori di probabile infezione in atto da HCV, come emerge dagli studi di donatori di sangue-riceventi (20) e come anche sostenuto dal riscontro di sequenze di acido nucleico virale (HCV-RNA) nel sangue di donatori implicati in casi di epatite nAnB post-trasfusionali e in fegato di pazienti sieropositivi con epatite cronica (21-22). La condizione tra presenza di anti-HCV ed infettività è tuttavia non assoluta dal momento che esistono pazienti anti-HCV sieropositivi senza viremia e pazienti anti-HCV negativi con viremia (21-22). Nell'epatite acuta nAnB, la comparsa degli anti-HCV è variabile e spesso tardiva (3-12 mesi) ed è generalmente meno frequente nei pazienti a rapida risoluzione rispetto a quelli che presentano una evoluzione cronica. L'anticorpo solitamente persiste per anni ad elevato titolo in pazienti con epatite cronica nAnB, anche se non mancano casi che manifestano positività intermittente degli anticorpi in sincronia con l'andamento delle transaminasi (20). Oltre all'originario C-100-3 sono stati preparati diversi peptidi codificati da porzioni strutturali e non strutturali del genoma virale da impiegarsi in test di seconda generazione (come il peptide C33 codificato dalla regione NS3 del virus).

PCR e fluorescenza

La determinazione di HCV-RNA mediante PCR e di anticorpi associati all'HCV su biopsia mediante tecniche di immunofluorescenza o immunoperossidasi sono procedure di estrema utilità diagnostica anche se entrambe le metodiche sono ancora ristrette alla ricerca (21,23).

Conclusioni.

La disponibilità di un test per la ricerca di anticorpi anti-HCV ha permesso di disegnare il profilo epidemiologico dell'epatite nAnB e di definire il ruolo predominante del virus C nelle epatiti nAnB a trasmissione parenterale (70-90%) come del resto in quelle sporadiche, criptogenetiche o "community acquired" (70-80%) (24). Nelle epatiti acute nAnB il limite diagnostico del test per anti-HCV è quello di determinare l'anticorpo in ritardo: 15-25% di positività nella fase acuta, oltre 80% di positività dopo

settimane o mesi dall'inizio della sintomatologia. Anticorpi anti-HCV sono stati ritrovati in elevata percentuale anche in pazienti con carcinoma epatocellulare e in alcolisti con lesioni epatiche (25-26). Del tutto inatteso è stato invece il riscontro di positività anti-HCV in pazienti con precedente diagnosi di epatite autoimmune, un dato che pone il problema sulla corretta scelta di terapie contrastanti come steroidi ed interferone (23). L'utilizzo del test per lo screening delle donazioni di sangue è sicuramente la prima misura preventiva specifica oggi disponibile per controllare la diffusione dell'epatite nAnB per via trasfusionale.

**TABELLA 1: CARATTERISTICHE DEL VIRUS
DELL'EPATITE E (HEV)**

- UNICO SIEROTIPO
- RNA, ss, +, 7.6 Kb
- DIMENSIONI: 32-34 nm
- COEFFICIENTE DI SEDIMENTAZIONE: 183S
- TASSONOMIA: CALICIVIRUS

**TABELLA 2: CARATTERISTICHE DEL VIRUS
DELL'EPATITE C (HCV)**

- PRESENZA DI UN MANTELLO LIPIDICO
- DIMENSIONI: 50-60 nm
- CAPACE DI INDURRE STRUTTURE CITOPLASMATICHE TUBULARI IN EPATOCITI DI SCIMPANZE' INFETTATI
- RNA, ss, +, 10 Kb

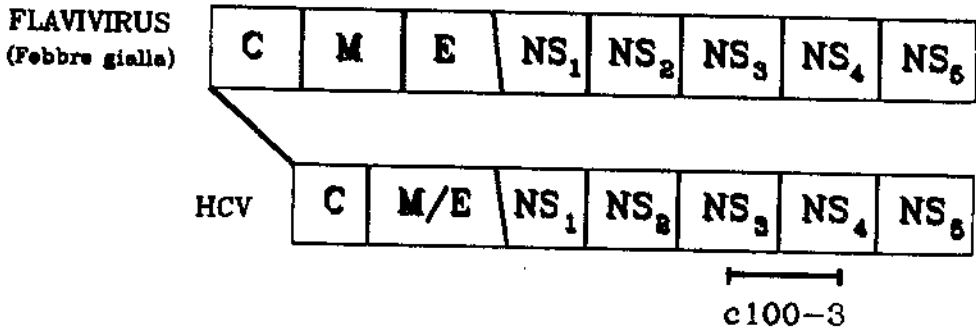


FIGURA 1: STRUTTURA GENOMICA DEI FLAVIVIRUS
E DELL' HCV

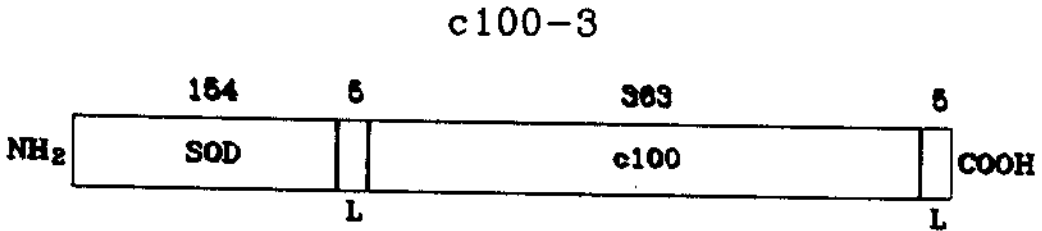


FIGURA 2: STRUTTURA DELL'ANTIGENE
RICOMBINANTE DELL'HCV

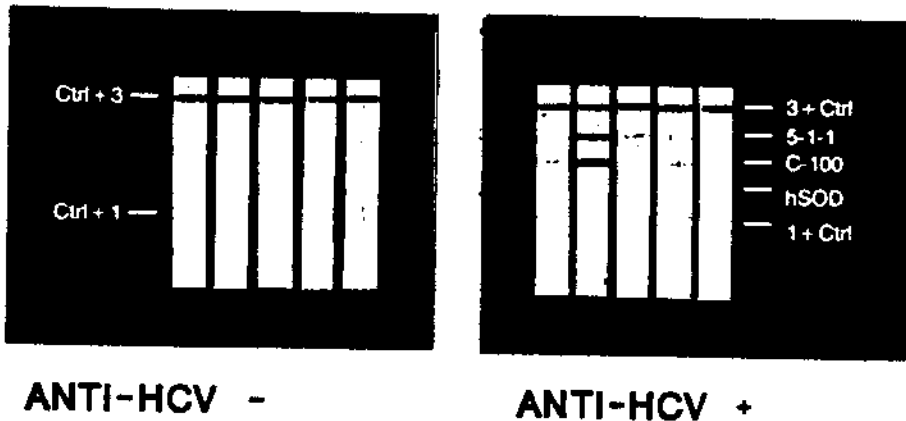


FIGURA 3: ESEMPI DI CAMPIONI REATTIVI E
NON REATTIVI AL TEST RIBA

BIBLIOGRAFIA

1. Reyes G.R., Purdy M.A., Kim J.P. et al. Science, 1990; 247: 1335-1339.
2. Khuroo M.S. Am J Med, 1980; 68: 818-824.
3. Wong D.C., Purcell R.H., Sreenivasan M.A. et al. Lancet 1980; ii: 876-879.
4. Tanden B.N, Joshi Y.K., Jain S.K. et al. Indian J Med Res 1982; 75: 739-744.
5. Sergeev N.W., Paktoris E.A., Ananev W.A. et al. Sovetskaia Healthcare Kirgizii 1957; 5: 16-23.
6. Nayak N.C., Panda S.K., Datta R. et al. Journal of Gastroenterology and Hepatology 1989; 4: 345-352.
7. Bradley D.W. Br Med Bull 1990; 46: 442-461.
8. Bradley D.W., McCaustland K.A., Cook E.H. et al. Gastroenterology 1985; 88: 773-779.
9. He L.P., Alling D., Popkin T. et al. J Infect Dis 1987; 156: 636-640.
10. Fagan E.A., Ellis D.S., Tovey G.M. et al. J Med Virol 1989; 28: 150-155.
11. Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J. et al. Isolation of a DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 1989; 244: 359-362.
12. Houghton M., Choo Q.L., Kuo G. Eur Patent Appl 88, 310, 922.5 and Publ 318, 216.
13. Kubo Y., Takeuchi K., Boonmar S. et al. Nucl Acid Res 1989; 17: 10367-10372.
14. Maeno M., Kaminaka K., Sugimoto H. et al. Nucl Acid Res 1990; 18: 2685-2689.
15. Prince A.M., Huima T., Williams B.A.A. et al. Lancet 1984; ii: 1071-1075.
16. Abe K., Shikata T. Acta Hepatol Jap 1984; 25: 308-321.
17. Arima T., Nagashima H., Murakami S. et al. Gastroenterol Jap 1989; 24: 545-548.

18. Miller R.H., Purcell R.H. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 2057-2061.
19. Kuo G., Choo Q.L., Alter H.J. et al. Science 1989; 244: 362-364.
20. Alter H.J., Purcell R.H., Shih J.W. et al. N Engl J Med 1989; 321: 1494-1500.
21. Weiner A.J., Kuo G., Bradley D.W. et al. Lancet 1990; 335: 1-3.
22. Garson J.A., Teddr R.S., Briggs M. et al. Lancet 1990; 335: 1419-1422.
23. Infantolino D., Bonino F., Zanetti A.R. et al. Ital J Gastroenterol 1990; 22: in corso di stampa.
24. Report of the Proceedings First International Symposium Hepatitis C virus. 14-15 Settembre 1989, Roma, Italia-Ortho Diagnostic Systems.
25. Colombo M., Kuo G., Choo Q.L. et al. Lancet 1989; ii: 1006-1008.
26. Sbolli G., Zanetti A.R., Tanzi E. et al. J Med Virol 1990; 30: 230-232.

ASPETTI EPIDEMIOLOGICI DELL'INFEZIONE DA VIRUS DELL'EPATITE C.

M. CHIARAMONTE*, T. STROFFOLINI**

* Divisione di Gastroenterologia "R. Farini"
Ist. di Medicina Interna - Università di Padova
** Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica
Istituto Superiore di Sanità - Roma

Hanno collaborato alla raccolta dei dati:

T. BERTIN, M. DELAITO, P. FABRIS, A. FLOREANI,
T. NGATCHU, E. NTAKIRUTIMANA.

* Divisione di Gastroenterologia "R. Farini"
Ist. di Medicina Interna - Università di Padova

Con il termine "epatite nonAnonB" si è definita per molti anni un'entità nosologica multiforme che includeva delle epatiti ad etiologia verosimilmente virale, ma sconosciuta (1,2,2b,3).

In tale gruppo si erano incluse inizialmente solo epatiti post-trasfusionali, successivamente la definizione si estese anche ad epatiti acute sporadiche dopo esclusione di tutte le cause note di epatite acuta (3,4,5). Un'epatite cronica poteva correttamente essere definita di tipo nonAnonB solo se derivata dalla cronicizzazione di una evidente epatite acuta nonAnonB (1,2,2b).

Non avendo a disposizione alcun sistema di diagnosi sierologica non era possibile definire se queste epatiti erano dovute ad un solo virus o a più d'uno, la reale diffusione di questo (o questi) virus nella popolazione, il rapporto fra casi di infezione sintomatica vs i casi asintomatici, le vie di trasmissione, ecc. Le informazioni di tipo epidemiologico che derivavano dalle osservazioni cliniche indicavano le trasfusioni di sangue e derivati tra i fattori di rischio prioritari; un'alta incidenza di questo tipo di epatiti fra i tossicodipendenti, i riceventi emoderivati e gli emodializzati; la promiscuità sessuale come altro fattore di rischio, anche se non prioritario (2,2b,4,5,7). Si osservavano peraltro anche casi di epatiti acute nonAnonB, definite "sporadiche" o

"community acquired" in cui non emergeva alcun fattore di rischio conosciuto (6). Si andavano inoltre accumulando evidenze che l' "epatite nonAnonB" fosse in realtà un'entità eterogenea che comprendeva malattie ad etiologia diversa (7b).

La pressochè contemporanea scoperta del virus dell'epatite C (HCV) (8) e del virus dell'epatite E (HEV) (9) ha consentito di differenziare almeno due grossi sottogruppi di epatiti nonAnonB, fra loro diversi per epidemiologia e per caratteristiche cliniche. Mentre il virus dell'epatite E, a trasmissione enterica, ha una diffusione epidemica soprattutto in paesi in via di sviluppo (10), il virus dell'epatite C (HCV) risulta essere responsabile di una rilevante quota di epatiti nonAnonB posttrasfusionali e sporadiche dei paesi occidentali (11,12,13).

Per la diagnosi sierologica di infezione da HCV abbiamo oggi a disposizione dei test che determinano nel siero la presenza di un'anticorpo diretto contro una proteina correlata all'HCV (11). Questo anticorpo - denominato antiHCV - è in realtà diretto contro una proteina non strutturale (C 100) dell'HCV prodotta in vitro con metodiche di ingegneria genetica (8,11).

Nelle epatopatie croniche la presenza di questo anticorpo si correla strettamente con la presenza di HCV-RNA nel siero e nel tessuto epatico (14), suggerendo che la sua positività -almeno in questi casi - sia spia della sottostante presenza del virus e quindi sia di infezione in atto che di infettività.

Nei pazienti con epatite acuta nonAnonB il test per antiHCV si positivizza abbastanza in ritardo rispetto al momento del contagio e alla comparsa della sintomatologia clinica. Il comportamento dell'antiHCV nel decorso e nella convalescenza di un'epatite acuta è molto variabile (15). Sebbene non sia emerso ancora un comportamento univoco sembrerebbe che la persistenza in circolo di antiHCV dosabile sia più frequente in casi di cronicizzazione di malattia mentre la sua sparizione - peraltro anche dopo molti mesi - sia più comune in casi che vanno a completa guarigione.

Non vi è prova a tutt'oggi che la presenza di antiHCV sia correlabile ad uno stato di immunità da infezione da HCV.

Le valutazioni oggi possibili circa l'epidemiologia dell'HCV si basano su due tipi di informazioni: a) quelle derivate dagli studi clinici relativi alle "epatiti nonA nonB", che però presentano i limiti legati alla poca specificità della diagnosi ed al fatto che l'epatite nonA nonB è una malattia che decorre molto spesso in forma oligosintomatica; b) quelle che derivano dai recenti studi sieroepidemiologici che utilizzano il test dell'antiHCV: anche in questo caso vanno tenuti presenti i fattori limitativi legati alle caratteristiche del test, e principalmente che esso - anche perchè non è stato di fatto disegnato a questo fine - non coglie i soggetti immuni.

Per l'HCV è evidente la trasmissione ematica (15,16,17,19,). Su questa premessa e sui dati epidemiologici derivati dalle osservazioni cliniche, si sono ipotizzate e studiate per l'HCV le classiche vie a trasmissione parenterale apparente ed inapparente (tab.1). A queste è stata aggiunta anche una possibile trasmissione con artropodi. Infatti, sebbene l'HCV non sia stato ancora visualizzato, la tipologia del suo genoma lo assimila ai "Flavivirus" dei quali una caratteristica fondamentale è la potenziale trasmissione con artropodi.

Tab.1 Possibili vie di trasmissione dell'HCV

- * Trasfusionale
- * Con emoderivati
- * Parenterale/transcutanea
- * Sessuale
- * Verticale/perinatale
- * Intrafamiliare
- * Con artropodi

PREVALENZA DI antiHCV IN POPOLAZIONE APERTA.

I dati relativi a questo aspetto derivano sostanzialmente dagli studi in donatori di sangue. Questi però si riferiscono ad una popolazione relativamente selezionata: adulti, con prevalenza di maschi, spesso già preselezionati sulla base di fattori di rischio per infezioni a trasmissione parenterale. In ogni caso da un'esame complessivo dei dati oggi disponibili emerge che:

a) la prevalenza di antiHCV nella popolazione aperta è in genere molto bassa ;

b) ci sono delle differenze geografiche nella prevalenza di antiHCV che rispecchiano, sotto alcuni aspetti, quelle dell'HBV (tab.2).

A tutt'oggi non sono emerse differenze significative di prevalenza fra i due sessi, mentre i dati disponibili non consentono alcuna valutazione definitiva circa le variazioni legate all'età, anche se sembra esserci una tendenza all'aumento di prevalenza dell'antiHCV con il crescere dell'età (20).

Tab.2 Prevalenza di antiHCV in donatori di sangue

Area geografica	N. soggetti testati	antiHCV+ N. (%)	Riferimento bibliograf.
U.S.A.:			
Ovest	2000	12 (0.6)	(18)
Est	1999	20 (1.0)	(18)
Sud	1999	8 (0.4)	(18)
Danimarca	1204	5 (0.42)	(18)
Olanda	1311	23 (1.75)	(21)
Germania	500	(0.4)	(22)
Francia	1296	(0.93)	(23)
Spagna	8954	102 (1.14)	(24)
Baleari	1025	52 (2.2)	(25)
Taiwan	500	(2.0)	(26)
Italia:			
Nord	8061	55 (0.68)	(20)
Sud	2742	42 (1.53)	(20)
Emilia	1090	15 (1.37)	(27)
Campania	3575	39 (1.09)	(28)
Veneto(PD)	500	5 (1.0)	

RELAZIONE FRA HCV E PATOLOGIA EPATICA ACUTA E CRONICA

Epatiti acute

La prevalenza di antiHCV epatiti acute posttrasfusionali oscilla dal 45 al 98% (tab.3) senza importanti variazioni geografiche, mentre nelle epatiti di tipo nonAnonB sporadiche varia dal 20 al 60% (tab. 4). Va però sottolineato che nelle epatiti acute è fondamentale il tempo dall'infezione nel quale viene eseguito il test: infatti la positività al test per antiHCV avviene in genere dopo parecchie settimane dall'inizio della sintomatologia (15).

Tab.3 Prevalenza di antiHCV in epatiti acute posttrasfusionali

Area geografica	N.soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
U.S.A.	56	55	(98%)	(29)
Giappone	10	6	(60%)	(30)
Spagna	54	46	(85%)	(31)
Grecia	44	27	(61%)	(32)
Italia:				
Veneto	82	74	(90%)	(33)
Umbria	31	14	(45%)	(34)
Toscana	18	8	(44%)	(35)

Tab.4 Prevalenza di antiHCV in epatiti acute nonAnonB sporadiche

Area geografica	N.soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
U.S.A.	13	8	(62%)	(36)
Giappone	35	7	(20%)	(37)
U.K.	158	45	(28%)	(38)
Danimarca	130	81	(62%)	(39)
Spagna	40	10	(25%)	(25)
Grecia	84	17	(20%)	(32)
Italia:				
Lombardia	137	40	(29%)	(40)
Veneto	125	45	(36%)	(41)
Toscana	47	28	(69%)	(42)
Campania	196	63	(32%)	(43)

Epatopatie croniche posttrasfusionali e criptogenetiche

Le epatiti croniche post-trasfusionali, intendendo con questo termine le epatiti croniche che derivano da un provato episodio acuto di tipo post-trasfusionale o sicuramente da contaminazione parenterale, risultano essere antiHCV positive nel 75-95% dei casi, con minime variazioni da popolazione a popolazione .

Le epatiti croniche che non trovano una ben definita causa etiologica vengono definite "criptogenetiche". Fino alla scoperta del HCV almeno il 30-40% delle epatopatie croniche che si osservavano in clinica dovevano portare questa "etichetta", anche se vari aspetti clinici ed epidemiologici facevano assimilare molti casi a forme virali. La ricerca dell'antiHCV è risultata positiva nel 60-80% delle epatopatie croniche criptogenetiche, con scarse variazioni geografiche (tab.5). Il rapporto maschi/femmine è vicino all'unità o lievemente a favore delle femmine (nella nostra casistica M/F 0.87), a differenza di quanto osservato nelle epatopatie da HBV, nelle quali si osserva una netta prevalenza di maschi. Per quanto riguarda l'età non vi sono al momento dati esaurienti: sembrerebbe peraltro che ci sia una tendenza all'aumento di prevalenza di antiHCV con l'avanzare dell'età . Analizzando i fattori di rischio per trasmissione parenterale (trasfusioni, interventi chirurgici maggiori, tossicodipendenza, tatuaggi, ecc.) non emergono correlazioni significative con nessuno di essi. Non è possibile peraltro escludere l'intervento di altre situazioni di rischio come le iniezioni eseguite con siringhe non a perdere, cure dentarie, estetiche, ecc.

Nei pazienti con epatopatie croniche sia post-trasfusionali che criptogenetiche:

- a) la positività del test sierologico Elisa risulta essere ad alti valori di O.D. in alta percentuale , e si conferma nei test di conferma nel 90-95 % dei casi;
- b) la presenza di antiHCV nel siero si correla con la presenza di HCV-RNA (determinato con PCR) sia su siero che su tessuto (14) e alla evidenziazione con metodiche di istochimica di antigeni correlati all'HCV negli epatociti (14b);

c) la prevalenza di positività per antiHCV non sembra variare con la gravità della malattia (tab.6).

Tab.5 Prevalenza di antiHCV in epatopatie croniche criptogenetiche

Area geografica	N. soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
Francia	7	5	(71%)	(48)
Germania	62	47	(75%)	(49)
Spagna	106	59	(56%)	(68)
Italia:				
Piemonte	254	171	(67%)	(46)
Emilia	32	18	(56%)	(27)
Emilia	56	40	(71%)	(53)
Veneto	207	171	(82%)	(52)
Veneto	105	74	(70%)	(51)
Lombardia	145	95	(36%)	(50)
Lombardia	185		(59%)	(44)
Campania	155	107	(69%)	(54)
Puglia	48	38	(74%)	(47)
Sicilia	372		(57%)	(55)

Tab.6 AntiHCV e diagnosi istologica in epatopatie croniche criptogenetiche (Padova)

	antiHCV+/ totale	%
ECP	5/ 7	71.4
ECA	43/ 49	87.7
Cirrosi	36/ 41	87.8
"Altro"	3/ 7	42.8
	87/105	83.6

Epatopatie croniche da causa nota

Positività variabili, fino anche al 50-60%, dal sono state riscontrate anche in epatopatie con fattori etiologici e/o patogenetici noti (HBV, alcol, autoimmunità).

Epatopatie croniche HBV e HDV correlate. Nei portatori cronici di HBsAg la prevalenza di antiHCV sembra aumentare con la severità della malattia epatica (tab. 7) ed è inversamente correlata con la positività per marcatori di replicazione dell'HBV (18,56)

La prevalenza di antiHCV è anche relativamente alta in pazienti con forme antiHDV+ (18-35%)(18). Va sottolineato tuttavia che la maggior parte dei casi descritti riconoscevano ne come fattore di rischio prevalente la tossicodipendenza.

Tab.7 **Prevalenza di antiHCV in portatori cronici di HBsAg in relazione al grado di danno epatico.**

HBsAg+	Napoli (n.235)	Bari (n.131)	Padova (n.102)
ASINTOM.	5/103(5%)	0/21	0/14
ECP	//////	4/26 (15%)	0/ 9
ECA	7/62 (11%)	8/32 (25%)	4/31(13%)
CIRROSI	14/49 (29%)	23/42 (54%)	7/27(26%)
HCC	11/21 (52%)	7/10 (70%)	9/21(43%)

Epatopatie etiliche. Il 25-50.% dei pazienti con epatopatie etiliche presenta positività per antiHCV. Non sembra vi siano rilevanti variazioni geografiche (almeno nell'area del Mediterraneo) (tab.8) . Vi è anche in questo caso una correlazione diretta fra positività per antiHCV e severità della malattia (tab.9).

Tab.8 Prevalenza di antiHCV in epatopatie etiliche

Area geografica	N. soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
U.S.A.	350	94	(27%)	(60)
Giappone	113	50	(44%)	(61)
Spagna	144		(27%)	(18)
Spagna	30		(38%)	(68)
Italia:				
Veneto	101	44	(44%)	(PD)
Lombardia	68	16	(23%)	(102)
Emilia	40	14	(35%)	(108)
Campania	62		(52%)	(18)

Tab.9 Prevalenza di antiHCV in epatopatie etiliche in relazione all'entità del danno epatico.

	Italia(PD)	Giappone (61)
Steatosi/fib.	7/23 (30%)	1/33 (3%)
ECP/ECA	8/13 (61%)	11/17 (65%)
Epatite alcolica	5/19 (26%)	/////////
Cirrosi	24/46 (52%)	18/39 (46%)
HCC	28/47 (60%)	20/24 (83%)

Epatiti croniche autoimmuni. La prevalenza di antiHCV in questi casi ha delle rilevanti variazioni da casistica a casistica (tab.10). Questo può essere dovuto sia ai criteri di selezione dei pazienti che ad una possibile diversa circolazione del HCV nella popolazione. Di fatto anche in questo caso sembra esservi una relazione con la severità dell'impegno epatico (tab.11). Inoltre sembra esserci una associazione fra infezione da HCV ed autoanticorpi LKM.

Tab.10 Prevalenza di antiHCV in epatiti croniche autoimmuni

Area geografica	N. soggetti testati	antiHCV+ N. (%)	Riferimento bibliograf.
U.S.A.	91	5 (5)	(44)
U.K.	53	21 (40)	(65)
U.K.	22	(8)	(18)
Spagna	34	15 (44)	(31)
Francia	21	(5)	(18)
Italia:			
Piemonte	50 (LKM+)	33 (66)	(46)
	27	7 (26)	
Emilia	46 (LKM+)	36 (78)	(63)
Emilia	48	28 (58)	(53)
Sicilia	27	17 (63)	(64)

Tab.11 AntiHCV in relazione alla "attività" clinica di malattia nelle epatiti croniche autoimmuni

	antiHCV+ N. %
E.C.A. in fase "attiva" (N.31) (non in trattamento)	20 (65%)
E.C.A. in remissione (N.22) (in trattamento)	1 (5%)
	(McFarlane et. al)(65)

Cirrosi Biliare Primitiva. Positività per antiHCV è stata osservata nel 4-33% dei casi di CBP (tab.12). Solo in una casistica francese si riferisce una differenza nella prevalenza di antiHCV in relazione al numero di trasfusioni ricevute dai pazienti (18), mentre da altri autori questo non è stato osservato.

Tab.12 Prevalenza di antiHCV in Cirrosi Biliare Primitiva

Area geografica	N.soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
U.K.	46	5	(11)	(66)
U.K.	15	0	-	(18)
Spagna	45	2	(4)	(18)
Spagna	3	1	(33)	(31)
Francia	37	5	(13)	(18)
Italia:				
Veneto	74	20	(27)	(67)
Sicilia	9	0	-	(18)

Tab.13 Storia di trasfusioni e/o interventi chirurgici "maggiori" in pazienti antiHCV+ e antiHCV- (Padova)

	antiHCV+	antiHCV-
* E.C. cripto	26/74 (35.7%)	11/31 (36.3%)
* C.B.P.	4/18 (22%)	2/51 (4%)
* E.C. Alcol	31/44 (70%)	30/57 (58%)

Caratteristica comune di queste situazioni sembra dunque essere la correlazione diretta fra prevalenza di antiHCV e severità della malattia epatica (tab.7,9,11) (67). Non sembra esserci correlazione fra positività di antiHCV e pregresse trasfusioni e/o interventi chirurgici maggiori (tab.13).

Inoltre la percentuale di positività ai test di conferma in questi casi è risultata essere più bassa che nelle forme posttrafusionali o criptogenetiche.

Il significato dell'antiHCV (co-patogenetico? di sovrapposizione di infezione da HCV? "falso" risultato?) in questi casi è ancora tutto da valutare.

Epatocarcinomi (HCC)

In Italia risultano essere antiHCV positivi il 60 % degli epatocarcinomi (tab. 14) , con alcune differenze in accordo all'etiologia della cirrosi associata all'HCC . La prevalenza di antiHCV negli HCC è risultata essere molto simile a quella osservata a quella delle cirrosi a pari eziologia (70,106). In altri casi invece la prevalenza di antiHCV in HCC è risultata essere superiore a quella osservata nelle epatopatie croniche (68,69). Anche negli HCC antiHCV+ non emerge una significativa presenza di alcun fattore di rischio di trasmissione parenterale, come per le epatopatie croniche antiHCV+. Il rapporto maschi/femmine negli antiHCV+ è mediamente più basso di quello osservato negli HCC HBV correlati.

Tab.14 Prevalenza di antiHCV in Epatocarcinomi

Area geografica	N.soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
Spagna	96	72	(75)	(68)
Francia	74	21	(28)	(48)
Sudafrica			(29)	(105)
Mozambico	189	69	(37)	(106)
Italia				
Piemonte	38	23	(60)	(46)
Lombardia	136	90	(66)	(69)
Emilia	78	46	(61)	(107)
Veneto	60	30	(60)	(70)
Campania	29		(62)	(18)
Sicilia	200	152	(76)	(71)

Tab. 15 Prevalenza di antiHCV in epatopatie croniche ed epatocarcinomi ad etiologia comparabile

Eziologia	Ep.cronica/cirrosi	HCC
HBsAg +	10/49 20 %	3/11 27 %
Alcol	12/22 54. %	12/23 52 %
Cripto	99/120 82 %	22/26 82 %

PREVALENZA DI antiHCV IN GRUPPI A RISCHIO**Tossicodipendenti**

I tossicodipendenti risultano molto frequentemente affetti da epatiti acute e croniche di tipo nonAnonB. La tossicodipendenza, inoltre, risulta essere il principale fattore di rischio nei casi di epatite acuta di tipo nonAnonB nella fascia di età 15-24 anni (92)

La prevalenza di antiHCV nei tossicodipendenti oscilla tra il 66 e il 92%, senza rilevanti variazioni geografiche. (tab.16)

Tab.16 AntiHCV in tossicodipendenti

Area geografica	N. soggetti testati	antiHCV+ N. (%)	Riferimento bibliograf.
U.S.A.	205	151 (74%)	(72)
	384	353 (92%)	(73)
U.K.	103	83 (81%)	(38)
Spagna	83	59 (70%)	(31)
Italia:			
Liguria	152	101 (66%)	(74)
Veneto	197	112 (57%)	(75)
Emilia	65	53 (81%)	(76)
Toscana	170	130 (76%)	(35)
Lazio	292	177 (61%)	(110)
Sicilia	94	62 (66%)	(77)

Emodializzati

Nei Centri di Emodialisi sono state descritti molti casi di epatiti acute nonAnonB, a volte anche aggregati in microepidemie.

I dati relativi alla prevalenza di antiHCV dimostrano: a) prevalenze di antiHCV variabili da Centro a Centro ma , comunque, sempre più elevate di quelle osservate nella popolazione aperta (tab.17);

b) una correlazione diretta con la durata della dialisi; c) prevalenze di antiHCV relativamente basse in pazienti con epatite acuta nonAnonB (18).

Tab.17 AntiHCV in emodializzati

Area geografica	N. soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
U.S.A.	N.R.		(20%)	(18)
Belgio	N.R.		(12%)	(18)
U.K.	N.R.		(1%)	(18)
Spagna	42	8	(20%)	(31)
Francia	176	53	(30%)	(78)
Francia	148	42	(28%)	(79)
Germania	884	96	(11%)	(80)
Germania	152	28	(18%)	(81)
Italia:				
Piemonte	90	28	(31%)	(46)
Lombardia	171	49	(29%)	(82)
Veneto	83	25	(31%)	(83)
Toscana	N.R.		(22%)	(35)
Lazio	94	20	(21%)	(84)

Emofilici.

Anche nei pazienti emofilici l'esperienza clinica indica esserci un'alta incidenza di casi di epatite acuta di tipo nonAnonB.

La prevalenza di antiHCV varia dal 60 al 90% (tab.18). La prevalenza di antiHCV cresce con l'entità di esposizione ad emoderivati (18). L'uso di emoderivati inattivati con trattamenti al calore o con solventi/detergenti riduce l'incidenza di sierconversioni ad antiHCV (18).

Tab.18 AntiHCV in emofilici

Area geografica	N.soggetti testati	antiHCV+ N.	(%)	Riferimento bibliograf.
Canada	92	84	(91%)	(85)
Francia	400	163	(63%)	(86)
Francia	500	331	(67%)	(87)
Olanda	305	251	(82%)	(88)
Costarica	112	72	(64%)	(89)
Italia:				
Piemonte	90	70	(78%)	(46)
Lombardia	236	193	(82%)	(90)
Veneto	51	46	(90%)	(91)
Toscana	85	66	(78%)	(35)

Talassemici

Il rischio di contrarre l'infezione da HCV per i talassemici è legato al numero di trasfusioni che ricevono. la prevalenza di antiHCV in questi pazienti è abbastanza alta e senza significative differenze geografiche (tab.19).

Tab.19 AntiHCV in talassemici (politrasfusi)

Area geografica	N.soggetti testati	antiHCV+ N. (%)	Riferimento bibliograf.
Sicilia	414	223 (53%)	(93)
Sicilia	287	174 (61%)	(93b)
Puglia	45	22 (45%)	(94)

Omosessuali maschi

La prevalenza di antiHCV in omosessuali maschi risulta essere superiore a quella osservata in donatori di pari età e sesso, ma inferiore a quella osservata in altri gruppi considerati a rischio per infezione da HBV e da HCV .

Analizzando i risultati derivati dalle varie casistiche (tab.20) emergono alcune differenze che non sembrano legate all'area di provenienza ma piuttosto ai criteri di selezione dei soggetti studiati (soggetti apparentemente sani oppure presentatisi ad ambulatori per malattie sessualmente trasmesse), alla positività per HIV, all'anno di arruolamento. Sono stati compiuti anche tentativi di correlazione fra positività per antiHCV ed abitudini sessuali senza peraltro trovare alcuna correlazione significativa.

Tab. 20 AntiHCV in omosessuali maschi

Area geografica	N.sogg. testati	antiHCV+(%) in:		Riferimento bibliograf.
		Tot.	HIV+ HIV-	
U.S.A.	259	3%		(18)
Spagna	26		8%	(31)
Grecia	245	7.8%	1.3%	(95)
U.K.	95	26%	4.1%	(38)
U.S.A.				
1978	219	66 %		
1985	180	6.7%		(96)
1989	90	1.1%		
Italia:				
Lazio*	132	25 %		(97)
Toscana	?		12%	(35)
Veneto				
1987	202	27.7%		
1988	69	7.2%		(98)
1989	66	4.5%		

Personale sanitario

Dall'esperienza clinica sono noti numerosi casi di infezione da epatite nonAnonB in operatori sanitari venuti in contatto attraverso punture accidentali o altri incidenti con sangue di pazienti con epatiti acute o croniche nonAnonB . A tutt'oggi vi sono pochissimi dati disponibili relativi alla prevalenza di antiHCV in personale sanitario. In uno studio compiuto all'Ospedale Cardarelli di Napoli emerge tuttavia una prevalenza di antiHCV in lavoratori opedalieri lievemente superiore a quella osservata in donatori di sangue della stessa area geografica (4.51% vs. 1.09%) (28).

Soggetti istituzionalizzati

Persone che passano la loro vita in comunità chiuse, soprattutto se handicappati mentali, sono considerati più esposti ad infezioni a trasmissione parenterale ed in particolare ad infezione da HBV. Di fatto non ci sono chiare evidenze cliniche che questi soggetti presentino una maggiore incidenza di epatiti nonAnonB. La prevalenza di antiHCV è

stata studiata fino ad oggi in poche strutture. I risultati (tab.21) dimostrano sostanzialmente una prevalenza superiore a quella della popolazione aperta, ma variabile da istituzione ad istituzione.

Tab.21 AntiHCV in soggetti istituzionalizzati (handicappati mentali)

Area geografica	N.soggetti testati	antiHCV+ N. (%)	Riferimento bibliograf.
Belgio *	180	20 (11.1)	(99)
	90	3 (3.3)	(99)
Italia:			
Veneto	79	2 (2.5)	(100)
Lazio	205	14 (6.8)	(101)

* bambini

Conviventi familiari di soggetti antiHCV positivi.

I familiari di soggetti portatori cronici di HCV sono considerati teoricamente a rischio di contrarre l'infezione. Dall'esperienza clinica emerge che:

- a) le segnalazioni di casi secondari di epatiti acute nonanB in famiglia, in assenza di altri fattori di rischio, sono sporadiche;
- b) vi sono invece aggregazioni familiari di casi di epatiti croniche "criptogenetiche";

La ricerca di antiHCV in familiari di portatori cronici ha messo in evidenza una prevalenza di poco superiore a quella osservata nella popolazione aperta (tab.22). Va tuttavia segnalato che :

- a) esistono delle variazioni nella prevalenza in accordo con il grado di parentela, con un massimo nei fratelli ed un minimo nei coniugi (tab. 22);
- b) i soggetti scoperti essere antiHCV positivi risultano a loro volta, per la maggior parte, affetti da malattia epatica.

Tab. 22 Prevalenza di antiHCV in familiari di soggetti antiHCV+

	Familiari (non spec)	Coniugi	Figli/Fratelli Genitori
Giappone (110)	7/34(8%)	?	?
Spagna (31)		1/18(6%)	//////////
U.S.A. (111)		0/42	0/20
Italia (112)		3/26(11%)	2/42(4.7%)
Italia (113)		2/17(11%)	9/24(37%)
Italia (114)	7/88(8%)		
Italia (115)		2/37(5.4%)	
Italia (76)	12/57(21%)		

Neonati di madri antiHCV positive

La trasmissione di epatite nonAnonB dalla madre ai figli è stata descritta da Tong (10). Tale forma di trasmissione non è peraltro di comune osservazione.

I risultati finora disponibili circa gli studi sierologici in neonati di madri portatrici di antiHCV si basano su casistiche retrospettive raccolte in occasione di indagini per la trasmissione dell'HIV o dell'HBV (116, 117, 118).

Da questi studi emerge che:

- a) una significativa percentuale di neonati presenta alla nascita antiHCV, ma tali anticorpi spariscono entro i primi mesi di vita;
- b) non sono stati osservati aumenti di transaminasi in questi bambini;
- c) la risposta al vaccino per l'epatite B nei bimbi antiHCV+ è stata ottimale.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Nel valutare i dati attualmente disponibili in letteratura circa l'epidemiologia dell'HCV vanno tenuti presenti i seguenti aspetti:

- a) i test diagnostici attualmente disponibili non consentono di identificare i soggetti immuni (o almeno non tutti);
- b) d'altro lato, la positività per antiHCV non significa sempre presenza del virus;
- c) gli studi sieroepidemiologici sono stati per la maggior parte compiuti su materiale di sieroteca, raccolto quasi sempre per motivi diversi dall'epidemiologia dell'HCV.

Sulla base dei dati oggi disponibili qualche conclusione relativa alle possibili vie di trasmissione può, comunque, essere tratta (tab.23), lasciando, peraltro, agli studi prospettici su larga scala le conclusioni definitive.

Tab.26 POSSIBILI VIE DI TRASMISSIONE DELL'HCV

* Trasmessione con sangue?

Si.

Dimostrata da:

- alta prevalenza di antiHCV in epatiti posttrasfusionali.
- positività per antiHCV e HCV-RNA in donatori implicati in epatiti posttrasfusionali e nei loro riceventi.
- trasmissione in animali.

* Trasmissione con emoderivati?

Si.

Dimostrata da:

- prevalenza di epatiti nonAnonB e di antiHCV in emofilici e in riceventi emoderivati (es. cardioperati)
- diminuzione di infezioni da HCV dopo trattamenti disattivanti degli emoderivati (18)
- pidemia di epatite nonAnonB in riceventi un particolare lotto di immunoglobuline (109) e alta prevalenza di antiHCV in questi soggetti (119)

* Trasmissione sessuale ?

Non dati definitivi.

Infatti:

- non evidenza clinica di aumentata incidenza di epatiti nonAnonB in omosessuali maschi o in coniugi di ammalati di epatiti acute e croniche di tipo nonAnonB

- ma più alta incidenza di promiscuità sessuale in ammalati di epatite acuta di tipo nonanonB (4)

- prevalenza di antiHCV in omosessuali maschi ed in coniugi di soggetti antiHCV+ più alta di quella osservata in popolazione aperta, anche se non a valori simili a quelli osservati per altre infezioni a trasmissione parenterale e sessuale (es HIV, HBV)

* Trasmissione intrafamiliare?

Non dati definitivi.

Infatti:

- aggregazione familiare di casi di epatiti croniche "criptogenetiche"

- prevalenze di antiHCV in familiari di portatori di antiHCV superiori a quelle osservate nella popolazione aperta - ma non dati sufficienti per valutare possibili modalità di trasmissione

* Trasmissione verticale/perinatale?

Tutta ancora da studiare.

Infatti:

- i dati relativi alla presenza di antiHCV su casistiche retrospettive sono fra loro non sempre in accordo;

- vi sono state segnalazioni -anche se occasionali

- di epatiti nonAnonB in madri e figli;

- non evidenza di trasmissione verticale in cuccioli di scimpanzè infettati sperimentalmente con HCV (104).

* Trasmissione con artropodi?

Nessun dato disponibile!

BIBLIOGRAFIA

1. Gerety R.J., Tabor E., Schaff Z. et al.
NonA-nonB hepatitis agents. In "Viral Hepatitis and Liver Disease" Eds. Vyas G.N., Diestang J.L., Hoofnagle J.H. Grune and Stratton, 1984, pag 23-47 .
2. Dienstag J.L., Alter H.J.
Non-A, Non-B hepatitis: Evolving epidemiologic and clinical perspective. Sem. Liver Dis. 1986, 6: 67-81.
- 2b. Alter MJ.
Non-A no-B hepatitis: sorting through a diagnosis of exclusions. Ann. Int. Med. 1989, 110:583-585
3. Feinstone SM., Kapikian AZ , Purcell RH., et al.
Transfusion associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. New Eng. J. Med. 1975, 292:767-770
4. Alter M.J., Coleman P.J., Alexander W.J. et al.
Importance of heterosexual activity in the transmission of hepatitis B and Non-A, Non-B hepatitis. JAMA 1989; 262:1201-1205.
5. Alter M.J., Gerety R.J., Smallwood L.A. et al.
Sporadic Non-A, Non-B hepatitis: frequency and epidemiology in an Urban U.S. population. J. Infect. Dis. 1982, 145:886-93.
6. Villarejos VM, Visonà KA, Eduarte CA, et al.
Evidence for viral hepatitis other than type A or type B among persons in Costa Rica. New Eng. J. Med. 1975, 293: 1350-1352.
7. Pellicanò S., Foti N.
Epidemiologia dell'epatite Non-A, Non-B (NANB).
Revisione della letteratura.
Minerva Medica 1990, 81:157-68
- 7b. Alter HJ.
Transfusion associated Non-A, Non-B hepatitis. The first decade in viral hepatitis and liver disease. Ed. A. Zuckerman
Alan R. Liss New York 1988.

8. Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J. et al.
Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome.
Science 1989, 244:359-62.
9. Bradley D, Andjaparidze A, Cook EH Jr et al
Aetiological agent of enterically transmitted nonA, nonB hepatitis.
J. Gen. Virol. 1988, 69: 731-738
10. Purcell RH, Ticehurst JR
Enterically transmitted nonA,nonB hepatitis: epidemiology and clinical characteristics
In "Viral and liver disease" Ed A. Zuckerman
New York, Alan R Liss, 1988, pag 131-137
11. Kuo G., Choo Q.L., Alter H.J. et al.
An assay for circulating antibodies to a mayor etiologic virus of Non-A, Non-B hepatitis. Science 1989, 244:362-64
12. Zuckerman AJ.
The elusive hepatitis C virus. A cause of parenteral Non-A, Non-B hepatitis.
BMJ (editorial) 1989, 299:871-873
13. Alter MJ., Sampliner RE.
Hepatitis C : And miles to go before we sleep.
New Engl.J. Med., 1989, 321:1538-40.
14. Weiner AJ, Kuo G., Bradley DW et al. Detection of hepatitis C sequences in nonA- nonB hepatitis. Lancet, 1990; 335 : 1-3
- 14b. Infantolino D., Bonino F., Zanetti AR., et al.
Localization of hepatitis C virus (HCV) antigen by immunohistochemistry on fixed-embedded liver tissue.
Ital J Gastroenterol. in press.
15. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW et al.
Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic nonA-nonB hepatitis.
New Eng. J. Med., 1989, 321:1494-1500

16. Mosley J.M., Aach R.D., Hollinger BF et al.
Non-A, Non-B hepatitis and antibody to
hepatitis C virus. JAMA 1990; 263, 1:77-78.
17. Stevens CE, Taylor PE, Pindyck et al.
Epidemiology of hepatitis C virus. A
preliminary study in volunteer blood donors.
JAMA 1990 263:49-53
18. Alter H, Alter M., Barbara J. et al.
Proceedings of the " First International
Symposium Hepatitis C Virus" Roma, 14-15
Settembre 1989 Ortho Diagnostic Systems -
Raritan NJ USA
19. Van Der Poel CL, Reesink HW, Schaasberg W et al
Infectivity of blood seropositive for hepatitis
C virus antibodies. Lancet 1990; 335: 558-560.
20. Sirchia G., Bellobuono A., Giovannetti A.,
Marconi M. Antibodies to hepatitis C virus in
Italian blood donors. Lancet 1989, 11:797
21. Van Der Poel CL., Lelie PN., Reesink HW.
Anti-HCV antibodies in risk groups and blood
donors. Int. Symposium on viral hepatitis and
liver disease Houston, April 4 - 8, 1990; 163.
22. Laufs R., Polywka S., Kruger W., et al.
The epidemiology of HCV in risk groups and
blood donors in Hamburg, W. Germany.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 162.
23. Ouzan D., Titraine C., Follana R.
Prevalence of anti-HCV in chronic liver
diseases and in blood donors population from
southern France. Int. Symposium on viral
hepatitis and liver disease. Houston, April 4
- 8, 1990; 145.
24. Gómez J., Quer J., López-Talavera JC., et al.
Evaluation of anti-HCV-positive donors
identified during routine screening.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 164.

25. Sanchis J., Jaume B., Duran M.A., et al.
A preliminary study on anti-HCV frequencies in 1105 blood donors and hepatic patients of Balearic Islands. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 161
26. Lin-Chu M, Tsai SJL, Watanabe J, Nishioka
The prevalence of antiHCV among chinese voluntary blood donors in Taiwan.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 163
27. Fornaciari G., Bassi C., Casali B. et al.
Antibodies to hepatitis C virus in blood donors and in patients with chronic liver disease.
Ital J Gastroenterol. 1990; 22:152.
28. Ascione A., De Luca M., Canestrini C., et al.
Prevalence of antibody to hepatitis C virus in hospital personnel. Ital J Gastroenterol 1990; 22:152.
29. Brotman B., Prince AM.
Role of hepatitis C virus in posttransfusion hepatitis : The NYU post-transfusion follow-up study revisited. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 167.
30. Mitamura K., Tanaka N., Aikawa T., et al.
Detection of antibodies to hepatitis C virus in patients with various liver diseases in Japan.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 145.
31. Esteban J.I., Esteban R., Viladomiu L., et al.
Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. Lancet, 1989; Aug.5: 294 - 296.
32. Tassopoulos N.C., Hatzakis A., Vassilopoulou-Kada H. et al.
Low prevalence of antibodies against hepatitis C virus in sporadic acute nonA, nonB hepatitis.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 157

33. Tremolada F., Casarin C., Tagger A., et al. Anti-HCV response in post-transfusion hepatitis (PTH). Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 168.
34. Francisci D., Stagni G., Baldelli F., et al. Prevalence of anti-HCV antibodies in patients with acute and chronic viral hepatitis. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 58.
35. Mazzotta F., Di Pietro M., Mecocci L., et al. Diffusion of anti-HCV antibodies in people at high risk for current blood virus infections. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 65.
36. Shapiro C.N., Moyer L.A., Lynn M.R. et al. An outbreak of nonA, nonB hepatitis in Southern Illinois. Int Symposium on Viral Hepatitis and liver disease. Houston, April 4- 8- 1990 154.
37. Sulalman H.A., Akahana Y., Suzuki H., et al. The prevalence of anti-HCV antibody in acute and chronic NANB liver diseases. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 143.
38. Mortimer P.P., Cohen B.J., Litton P.A. et al., Hepatitis C virus antibody. Lancet 1989; ii: 798
39. Wantzin P., Krosgaard K., Kryger P. et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in 130 patients with acute hepatitis nonA, nonB. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease Houston, April 4 - 8, 1990; 154
40. Zanchetta N., Ragni M.C., Re M. et al. Antibody to HCV in the serum of patients with acute and chronic hepatitis. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 56

41. Bortolotti F., Cadrobbi P., Crivellaro C., et al. Epidemiology of acute Non-A, Non-B hepatitis in the last decade. *Ital J Gastroenterol.* 1990; 22:153.
42. Mazzotta F., Di Pietro M., Bartolozzi D. et al. HCV infection: acute and chronic hepatitis. *Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis.* Bari, February 15 - 17, 1990: 92
43. Mele A., Rapicetta M., Saggiocca L. et al. Presence of antibodies anti hepatitis C virus in patients with nonA, nonB hepatitis in Naples. *Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease.* Houston, April 4 - 8, 1990; 161
44. Colombo M., Donato MF., Rumi MG., et al. Prospective of primary liver carcinoma in patients with cirrhosis and hepatitis C virus infection. *Ital J Gastroenterol.* 1989; 21:370
45. Barrera JM., Ercilla MG., Bruquera M., et al. Antibodies to hepatitis C virus (anti-HCV) in post-transfusion Non-A, Non-B hepatitis. *Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease.* Houston, April 4 -8, 1990; 170.
46. Baldi M., Negro F., Saracco G. et al. Hepatitis C virus: clinical significance of anti-HCV and HCV-RNA and characterization of an Italian isolate *It J Gastroenterol.* 1990; 22: 154
47. Sansonno D., Dammacco F. Antibodies to hepatitis C virus in Non-A, Non-B post-transfusion and cryptogenetic chronic liver disease. *Lancet*, September 30, 1989: 798-799
48. Ducreux M., Buffet C., Dussaix E. et al. Antibody to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1990; i: 301

49. Hopf U., Moller B., Kuther D. et al.
Long-term follow-up of posttransfusion and sporadic chronic hepatitis Non-A, Non-B and frequency of circulating antibodies to hepatitis C virus (HCV).
Journal of Hepatology 1990; 10:69-76.
50. Viganò P., Gubertini G., Valsecchi L., et al.
Prevalenza di anti-HCV in soggetti con epatopatia cronica. 10° Simposio epatite e AIDS. Rimini, Apr.26 - 28, 1990:42
51. Chiaramonte M., Aneloni V., Vicarioto M., et al.
HCV in cryptogenic chronic liver disease (CLD) : Prevalence of anti-HCV and clinical characteristics. Ital J Gastroenterol. 1989; 21:369.
52. Diodati G., Bonetti P., Tagger A. et al.
Prevalence of antibody to hepatitis C virus in cryptogenic chronic liver disease: its correlation with epidemiological features and with response to interferon treatment.
Ital J Gastroenterol. 1990; 22: 164
53. Cassani F., Ballardini G., Fusconi M., et al.
Autoimmune chronic hepatitis and anti-HCV: An intriguing overlap. Ital J Gastroenterol. 1990; 22:154.
54. Rapicetta M., Gaeta GB., Spardaro A., et al.
Anti-HCV and anti-HBV antibodies in patients with cryptogenic liver disease from southern Italy.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 147.
55. Craxì A., Almasio P., Di Marco V., et al.
HCV infection in chronic liver disease of different etiology. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 146.
56. Caporaso N., Morisco F., Romano M., et al.
Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in HBsAg positive carriers. Ital J Gastroenterol. 1990; 22:152.

57. Fattovich G., Tagger A., Giustina G., et al.
Long term follow-up of anti-HBe/anti-HCV
positive, HBV-DNA/HDV negative patients with
chronic hepatitis
Ital J Gastroenterol. 1990; 22:169.
58. Fatuzzo F., Cacopardo B., Mughini M.T., et al.
Preliminary investigations on HCV infection in
HBV related chronic liver disease.
Ital J Gastroenterol. 1990; 22: 169
59. Proceedings 1st International Symposium
Hepatitis C Virus Rome, September 14-15, 1989
Ortho Diagnostic System-Chiron Corporation,
Chapter VI: pp. 53-64
60. Mendenhal C.L., Seeff L., Diehl A.M. et al.
Hepatitis B and C serologic markers:
relationship to alcoholic hepatitis and
cirrhosis.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease. Houston, April 4 -8, 1990; 147.
61. Shimizu S., Kiyosawa K., Sodeyama T., et al.
Prevalence of antibody to hepatitis C virus
(HCV) in heavy drinkers with liver disease.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease. Houston, April 4 -8, 1990; 144.
62. Chiaramonte M., Fabris P., Delaito M. et al.
Anti-HCV in alcoholic liver disease.
Int. Symposium on progress and prospects in
viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990:
63. Lenzi M., Ballardini G., Fusconi M., et al.
Type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C
virus infection. Lancet 1990, 335: 258-59.
64. Magrin S., Craxi A., Almasio P., et al.
"Autoimmune" chronic active hepatitis: A HCV-
related disease ?
Ital J Gastroenterol. 1990; 22:154.
65. McFarlane I.G., Smith H.M., Johnson P.J., et
al.
Hepatitis C virus antibodies in chronic active
hepatitis: pathogenetic factor or false-positive
result? Lancet 1990, 335: 754-57.

66. Skidmore SJ., Herbert HA., Elias E.
The incidence of anti-hepatitis C (HCV) in Non-A, Non-B hepatitis (NANBH) before and after transplantation. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 163
67. Chiaramonte M., Floreani A., Giacomini A., et al.
Anti-HCV in primary biliary cirrhosis. Gut, 1990; 31: 626
68. Bruix G., Barrera J.M., Calvet X. et al.
Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. Lancet 1989; ii: 1004-1006
69. Colombo M., Kuo G., Choo Q.L. et al.
Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. Lancet 1989; ii: 1006-1008
70. Chiaramonte M., Farinati F., Faggiuoli S. et al.
Antibody to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. Lancet 1990; i: 301-302
71. Simonetti R.G., Cottone M., Craxi A. et al.
HCV infection in hepatocellular carcinoma and cirrhosis: A case-control study.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 222
72. Hanson M., Polewski H.F.
The prevalence of anti-HCV in selected populations from a low risk area. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 -8, 1990; 164
73. Lesniewski, RR., Dawson GJ., Holzer TJ., et al.
Prevalence of HCV infection in a population of intravenous drug users in Chicago.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 154.

74. Mazzei C., Imberciadori G., Saccone F., et al. Prevalence of anti-HCV antibodies in drug addicts, blood donors and general population in an area of West Liguria. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 114.
75. Manoni F., Gessoni G., Ngatchu T., Guarnieri G., Chiaramonte M. Anti-HCV prevalence in HIV positive intravenous drug users. In press.
76. Verucchi G., Boschi A., Attard L., et al. Prevalence of anti-HCV antibodies in HBV-infected patients. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 147.
77. Fatuzzo F., Russo R., Cosentino S. et al. Antibodies to hepatitis C virus among risk groups in Catania. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 158
78. Couroucé AM., Chauveau P., Simon N., et al. Antibodies to hepatitis C virus in haemodialysis patients. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 149.
79. Ouzan D., Chanas M., Eugene M., et al. Prevalence of anti-HCV and anti-HBc in hamodialysis patients and staff members of french dialysis center. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 150.
80. Schlipkoter U., Roggendorf M., Rasshofer R., et al. Prevalence of anti-HCV in haemodialysis patients in southern Germany. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 149.
81. Gesemann M., Thraenhart O., Kocaman A., et al. Prevalence of hepatitis C virus antibodies in patients on chronic haemodialysis. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 151.

82. Mondelli MU., Critina G., Rondanelli EG. High prevalence of antibody to hepatitis C virus in hemodialysis: Possible relationship with liver disease. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 149.
83. Gessoni G., Mannoni F., Rebeschini M., et al. Antibody against hepatitis C virus in hemodialyzed. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 60
84. De Marzio E., Leonetti Luparini R., Russo G.E. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus (HCV) in hemodialysis patients. Ital J Gastroenterol. 1990; 22:174.
85. Recherer PR., Shapiro D., Wang J-G., et al. Hepatitis C virus infection in hemophiliacs. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 152.
86. Noel PR., Guerais C., et al. Lancet, 1989; September 2: 560
87. Masonneuve P., Laurian Y., Couroucé AM., et al. Anti-HCV antibodies in a cohort of french patients with haemophilia. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 152.
88. Lelie PN., Mauser-Bunschoten EP., Bakker E., et al. Anti-HCV responses in dutch haemophiliacs during eleven years of observation. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 152.
89. Visonà KA., Montero C., Cordero R., et al. Analysis of hepatitis C infection in haemophiliacs of Costa Rica. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease Houston, April 4 - 8, 1990; 151

90. Rumi Mg., Colombo M., Gringeri A., et al. High prevalence of antibodies to hepatitis C virus in multitransfused haemophiliacs with normal transaminase levels. *Ann. intern. med.* 1990; 112: 379 - 380
91. Tagariello G., Di Mambro G., Davoli PG., et al. Anti-HCV in multitransfused haemophiliacs. *Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990;* 155
92. Mele A., Stroffolini T., Ferrigno L., et al. *Rapporti Istisan 89/40, ISSN-0391-1675; Roma, 1989.*
93. Musumeci S., Di Gregorio ., Schilirio G., et al. Antibodies to hepatitis C virus in Sicilian politransfused thalassemic patients. *Ital J Gastroenterol.* 1990; 22: 177
- 93 bis Maggio a., Magrin S., Renda D. et al. HCV infection in polytrasfused italian subjects with B-Thalassemia. *Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990;* 63
94. Di giorgio G., Martini E., Centra M., et al. Hepatitis C virus antibodies and HBV markers among multitransfused B thalassemics. *Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990;* 62
95. Papaevangelou G., Roumeliotou A., Kotsianopoulou M., et al. Sexual transmission of HCV. *Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990;* 156
96. Hanson and Polesky AF. Prevalence of anti-HCV in male homosexuals. *Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990;* 155

97. Franco E., Mele A., Caprilli F., et al.
Anti-HCV prevalence in outpatients attending a sexually transmitted disease clinic in Italy.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 155
98. Gasparini V., Chiaramonte M., Moschen M.E., et al.
Hepatitis C virus infection in homosexual men: A seroepidemiological study in gay clubs in North-East Italy.
In press.
99. Vranckx R. and Van Damme P.
Anti-HCV in institutionalized mentally handicapped. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 85
100. Zampieri L., Picco L., Dall'Igna L., et al.
Prevalence of HBV and HCV markers in psychiatric patients. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 108
101. Di Nardo V., Barbante S., Albertoni F., et al.
HBV infection and HCV-Ab prevalence in mentally impaired patients in institutions. Int. Symposium on progress and prospects in viral hepatitis. Bari, February 15 - 17, 1990; 153
102. Annoni G., Rumi M.G., Lampertico P., et al.
Prevalence of hepatitis C virus (HCV) antibodies in alcohol abusers and its association with the severity of liver disease. Ital J Gastroenterol. 1990; 22:153.
103. Tong M.J., Thursby M., Rakela J., et al.
Studies on maternal-infant transmission of the viruses which cause acute hepatitis.
Gastroenterology 1981; 80: 999-1004.

104. Muchmore E., Peterson DA., Allen R., et al. Prevalence of hepatitis C virus seropositive chimpanzees and contact personnel in a primate facility after 12 years of Non-A, Non-B hepatitis research. Int. Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, April 4 - 8, 1990; 157.
105. Kew M.C., Houghon M., Choo Q.L., Kuo G. Hepatitis C virus antibodies in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. Lancet 1990; 335:873-74.
106. Dazza M-C., Meneses L-V., Girard P-M., et al. Hepatitis C virus antibody and hepatocellular carcinoma. Lancet, 1990; 335:1216.
107. Sbolli G., Zanetti A.R., Tanzi E., et al. Serum antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. J med virol. 1990; 30:230-232.
108. Brillanti S., Barbara I., Migliori M., et al. Hepatitis C virus: A possible cause of chronic hepatitis in alcoholics Lancet, 1989; ii: 1390-1391.
109. Weilland O., Mattsson L., Glaumann H. Non-A, Non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin. Lancet, 1986; i:
110. Kamitsukasa H., Harada H., Yakura M. et al Intrafamilial transmission of hepatitis C virus. Lancet, 1989 ;ii:987
111. Everhart J.E., Di Bisceglie A.M., Murray L.M., et al. Risk for Non-A, Non-B (type C) hepatitis through sexual or household contact with chronic carriers. Annals of int. med. 1990; 112:544-545.
112. Tremolada F., Casarin C., Guadagnino V. et al. Intrafamilial and sexual transmission of hepatitis C virus (HCV) Infection. Ital. J. Gastroenterology 1990; 22:166

113. Delaito M., Fabris P., Floreani A. et al.
Household transmission of Hepatitis C virus
(HCV) Ital. J. Gastroenterology 1990; 22:168
114. Ideo G., Bellati G., Pedraglio E. et al.
Intrafamilial transmission of Hepatitis C
virus Lancet 1990; 335:353
115. Giuliani-Piccari G., Formica G., Sarti F., et
al. Prevalence of HCV infection in Non-A,
Non-B chronic liver diseases in Italy.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease Houston, April 4 - 8, 1990; 145.
116. Fortuny C., Ercilla M.G., Barrera J.M. et al
HCV vertical transmission. Prospective study
in infants born to HCV seropositive mothers.
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease Houston, April 4 - 8, 1990; 158.
117. Tagger A., Ferroni P., Ribero M.L. et al
Maternal-infant transmission of HCV infections
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease Houston, April 4 - 8, 1990; 158.
118. Reesink HW., Ip HMH., Wong VCW. et al.
Lack of evidence for maternal-infant
transmission of the hepatitis C virus (HCV).
Int. Symposium on viral hepatitis and liver
disease Houston, April 4 - 8, 1990; 159.
119. Dittmann S., Roggendorf M., Durkop J. et al.
Antibodies to Hepatitis C virus (HCV) in acute
and chronic parenterally transmitted
hepatitis non-A, non-B (HNANB). Int.
Symposium on viral hepatitis and liver disease
Houston, April 4 - 8, 1990; 155.

ASPETTI CLINICI E TERAPIA DELL'EPATITE VIRALE C

M. Colombo, MF. Rumi, E. Del Ninno

Istituto di Medicina Interna

Università di Milano

L'epatite non-A non-B parenterale è una malattia importante sia per le sue dimensioni che per alcuni aspetti della sua storia naturale. In Italia l'epatite non-A non-B, causa ogni anno circa 50.000 nuovi casi di epatite trasfusionale(1,2). Poichè l'epatite trasfusionale rappresenta il 20% di tutti i casi di epatite non-A non-B, ogni anno altri 200.000 nuovi casi di epatite vengono trasmessi per via non trasfusionale. Questi comprendono sia casi di infezione in soggetti a rischio (tossicodipendenti, medici, pazienti) che infezioni sporadiche, cioè in individui senza evidenti fattori di rischio epatitico. Benchè l'epatite non-A non-B sia stata definita come entità clinica, immunologica e biologica indipendente fin dal 1974, tuttavia per molti anni l'agente virale responsabile di questa infezione ha eluso ogni tentativo di identificazione con i metodi tradizionali di ricerca. Questi insuccessi sono probabilmente dovuti alle peculiari caratteristiche biologiche del virus che produce bassi livelli di viremia ed ha scarso potere immunogeno per l'ospite. Nel 1988 grazie ad uno studio collaborativo tra il Dr. Daniel Bradley del CDC di Atlanta e il Dr. M. Houghton della Chiron Corporation di Emeryville è stato identificato e clonato il genoma del virus dell'epatite C (HCV), ritenuto l'agente eziologico dell'epatite parenterale non-A non-B (3). L'espressione in cellule di lievito di un epitopo dominante dell'HCV (C100-3) ha fornito il substrato antigenico per allestire un test immunoenzimatico (ELISA) che rileva nel siero dei pazienti, la presenza di anticorpi virali (4).

ASPETTI CLINICI

L'epatite C è una malattia blanda. E' anitterica nel 75% dei casi, ed è caratterizzata da ampie oscillazioni delle transaminasi nel tempo con un aumento medio di circa 15 volte. Tuttavia sono stati registrati anche casi accompagnati da severe manifestazioni extraepatiche della infezione (anemia aplastica, eritroderma, e sindrome di Guillam-Barré) e sono stati segnalati anche casi di epatite ad evoluzione fulminante. In molti casi tuttavia l'epatite fulminante è spesso associata a malattie preesistenti come la cirrosi o l'immunodepressione severa. Le lesioni istologiche epatiche da HCV sono pleiomorfe: alcuni pazienti hanno lesioni patognomiche di epatite virale acuta, altri hanno modesti infiltrati infiammatori degli spazi portali e dei sinusoidi con modeste lesioni epatocellulari (lesioni tipo mononucleosi infettiva). Come regola generale nella infezione acuta prevale la lesione infiammatoria lobulare sull'infiltrato portale. Circa il 50% di tutte le infezioni C trasfusionali e sporadiche ha evoluzione cronica (Tabella 1 e 2) (5-7). Recenti studi di infezione sperimentale dello scimpanzè hanno confermato il dato clinico riguardante l'esistenza di casi di epatite che guariscono permanentemente accanto a casi che vanno in cronicizzazione. Negli animali con epatite C autolimitantesi, l'anti-HCV tende a scomparire o a ridursi significativamente nel titolo. Sommando le varie esperienze cliniche sino a qui pubblicate appare sempre più evidente che dopo infezione HCV un certo numero di pazienti(50%) guarisce sia dall'infezione che dall'epatite, con perdita di anti-HCV. Un certo numero di pazienti con epatite C sviluppa uno stato di infezione cronica senza malattia (portatori "sani") e di questi molti rimangono anti-HCV

Infine un certo numero di pazienti dopo infezione C sviluppa infezione cronica e malattia. In questi pazienti il comportamento delle transaminasi nella fase di cronicizzazione della epatite può essere diverso. In alcuni, la progressione della epatite cronica è accompagnata da importanti fluttuazioni delle transaminasi, in altri da riduzione progressiva dei livelli delle transaminasi. Talvolta dopo anni di quiescenza, la infezione può riaccendersi con progressiva ripresa delle alterazioni delle transaminasi. Alcuni studi indicano che l'immunodepressione farmacologica e virale (infezione HIV) possano aggravare il decorso della infezione cronica HCV. L'esame istologico del fegato non ha un valore predittivo sull'evoluzione della malattia cronica. Infatti, come dimostrato da Hay in uno studio condotto su una casistica di emofilici, pazienti con lesioni istologiche non progressive (epatite cronica persistente) svilupparono nel follow-up cirrosi (11). Benchè il tempo di latenza tra infezione e cirrosi sia variabile, la cirrosi in media ha una "incubazione" di circa 20 anni. L'HCV come l'HBV sembra avere un importante ruolo nello sviluppo di carcinoma epatico. La prova più convincente di ciò è lo sviluppo sequenziale di cirrosi e carcinoma epatico in pazienti con infezione cronica non-A non-B post-trasfusionale (Tabella 3)(12). In una serie di pazienti studiati retrospettivamente da Kiyosawa il tempo che separa l'infezione non-A non-B dallo sviluppo di carcinoma è di circa 30 anni (13). Un'altra importante prova del legame esistente tra HCV e carcinoma epatico è stata fornita dagli studi clinici che hanno dimostrato una elevata prevalenza di anti-HCV in pazienti con cirrosi ed epatocarcinoma (Tabella 4) (14-22). Ad ulteriore conferma che l'infezione HCV attraverso lo sviluppo di cirrosi può esitare in

carcinoma epatico, Kaneko (23) ha dimostrato presenza di sequenze genomiche virali C nel tessuto tumorale di alcuni pazienti. E' improbabile che l'HCV sia un virus tumorigeno diretto. Infatti nei fegati di scimpanzè infetti non è mai stata rilevata presenza dell'enzima transcriptasi inversa necessaria per ricopiare l'RNA dell'HCV in DNA, e di conseguenza è improbabile che l'HCV possa integrarsi nel genoma epatocitario. Il virus è probabilmente un importante co-fattore in alcune forme di epatocarcinoma ed è probabile che agisca indirettamente stimolando le mitosi cellulari attraverso il meccanismo della infiammazione cellulare (epatite cronica). Non è ancora chiaro quale strategia il virus adotti per sottrarsi al sistema immunitario dell'ospite, quando stabilisce l'infezione cronica. E' probabile che il virus sia presente come infezione latente negli epatociti dei portatori cronici e in determinate circostanze, dia luogo ad episodi di recrudescenza.

PREVENZIONE

Sia l'elevato numero di infezioni C che si verifica annualmente e l'importanza delle sequele, giustificano gli sforzi effettuati per prevenire la trasmissione di questa infezione. Per prevenire la trasmissione dell'epatite trasfusionale è necessaria una strategia articolata nella quale occupa un ruolo centrale la selezione dei donatori. (Tabella 5) Negli Stati Uniti, l'anti-HCV è presente in circa l'80% dei donatori implicati nella trasmissione di epatite C e sprovvisti di marcatori surrogati di infezione non-A non-B (cioè anti-HBc e transaminasi elevate). Il test pertanto permette di

identificare un congruo numero di donatori infetti che sarebbero non identificabili altrimenti (24-26). La specificità diagnostica del test nei gruppi a basso rischio come i donatori è del 40%. La disponibilità di un test di conferma (Riba test) permette di ridurre i casi falsi positivi. La trasfusione di sangue anti-HCV negativo produce epatite nel 3% dei riceventi. Lo screening di tutta la popolazione italiana di donatori può prevenire circa il 50% dei casi di epatite trasfusionale, causando la perdita solo dell'1-1,5% di tutte le donazioni. Nei pazienti sottoposti ad intervento chirurgico, l'incidenza di epatite può essere ulteriormente ridotta diminuendo il volume di sangue trasfuso, poichè il rischio di trasmettere epatite è proporzionale al numero di unità trasfuse. A tal fine, occorre incrementare l'uso della autotrasfusione di sangue predepositato ed il recupero di sangue intraoperatorio. In selezionate condizioni cliniche, l'epatite può essere parzialmente prevenuta anche trattando il paziente con gammaglobuline umane normali prima e una settimana dopo la trasfusione. A partire dal 1985 la contagiosità dei plasmaderivati è stata attenuata mediante trattamento al calore in ambiente secco, sotto forma di vapore, in fase liquida o in presenza di n-eptano. Il calore è stato usato a varie temperature (60°C-80°C) per vario tempo (30-72 ore). La sterilizzazione dei plasmaderivati è possibile anche con metodi di sterilizzazione "a freddo", come impiegando betapropiolattone e psoralen, agenti denaturanti eccitati da raggi UV. Anche i metodi chimici basati sull'impiego di detergenti e solventi inattivano i virus, nei plasmaderivati (27).

TERAPIA

Il trattamento dell'epatite C si pone due obiettivi. Uno, a breve termine, di migliorare il danno istologico della malattia e di ridurre la infettività del paziente. Il secondo, a lungo termine, di ridurre il rischio di epatocarcinoma e di prolungare la sopravvivenza dei pazienti. Precedenti tentativi di trattamento basati sull'impiego di steroidi anti-infiammatori o acyclovir (28,29) si sono dimostrati infruttuosi. Invece, per le sue spiccate attività antinfiammatorie ed antivirali a largo spettro, l'interferone (IFN) ha potenzialità di impiego nel trattamento della epatite cronica C. Questa citochina infatti, inibisce la crescita di virus RNA e DNA ed inibisce la replicazione del virus dell'epatite A in colture cellulari ed in vivo (30) è attivo contro la replicazione del virus B e Delta (31-33). Inoltre, l'interferone è un farmaco sicuro, relativamente non tossico e disponibile in quantità illimitate grazie alle tecniche di ricombinazione genetica.

Meccanismo d'azione

Gli interferoni sono una famiglia di proteine caratterizzate da attività antivirale, antiproliferativa e immunomodulatrice (31,34). Suddivisi in tre classi (alfa, beta e gamma) gli interferoni hanno diverse proprietà strutturali e biochimiche (Tabella 6). Il loro effetto antivirale dipende dall'interazione con recettori specifici situati sulla superficie delle cellule e dall'induzione di una cascata di proteine intracellulari. Le proteine che mediano l'azione degli interferoni sono la 2'5' oligoadenil sintetasi e la proteinchinasi P1. L'attività di questi enzimi è innescata da RNA a doppia elica (ds RNA) (Figura 1). Il

primo enzima polimerizza molecole di ATP e determina la sintesi di oligomeri 2'5'-legati capaci di attivare una nucleasi cellulare latente, la ribonucleasi L. Questo enzima è capace di degradare mRNA cellulare, virale ed RNA ribosomiale. La proteinochinasi, invece fosforila il fattore d'iniziazione eIF-2 in un sito specifico della subunità alfa. Tale fosforilazione inibisce l'iniziazione della sintesi della catena polipeptidica. Il blocco di queste vie metaboliche interferisce con la sintesi proteica delle cellule. Durante la fase di replicazione dei virus nelle cellule, viene prodotto ds RNA necessario ad attivare i due enzimi, in alcuni casi la cellula stessa produce ds RNA. Gli interferoni esplicano il loro effetto antivirale anche attraverso una azione immunologica. L'interferon gamma possiede effetti immunologici più potenti di quelli antivirali (31). L'effetto immunologico consta sia nell'induzione dell'espressione di antigeni HLA di classe I e II, che nella regolazione della produzione di altre citochine dotate di proprietà omeostatiche quali l'interleuchina 1 e 2 ed il fattore di necrosi tumorale (TNF). L'interferone gamma aumenta l'attività dei macrofagi e delle cellule NK e, come l'interferone alfa stimola la maturazione dei linfociti T citotossici.

Studi pilota di terapia

Il pioniere nell'impiego dell'interferone nel trattamento dell'epatite C è stato Hoofnagle (35). 10 pazienti con epatite cronica non-A, non-B post-trasfusionale ricevettero da 1 a 5 MU giornaliere di alfa 2 interferone seguite da una dose di mantenimento di 1 MU tre volte la settimana per 12 mesi. In 8 pazienti il trattamento determinò marcata e rapida normalizzazione delle transaminasi nel volgere di un mese. Nel

50% dei pazienti le transaminasi rimasero nella norma dopo sospensione del trattamento. Questi pazienti, sono ancora in remissione 6-30 mesi dopo l'interruzione del farmaco (36). Un'altra importante informazione di questo studio riguardava la tollerabilità del farmaco. Infatti il trattamento provocò modesti effetti collaterali, cioè febbre, astenia, cefalea e irritabilità che scomparvero con la riduzione della dose di interferone. A questo studio, hanno fatto seguito altri studi non controllati (37-39), i quali hanno avuto il merito di fornire le basi per disegnare i recenti studi controllati. Questi studi hanno infatti dimostrato che 1) i pazienti rispondono al trattamento protratto (6 mesi) con dosi generalmente più basse di quelle necessarie per trattare l'epatite B o delta; 2) la risposta al trattamento è rapida nella insorgenza e non si accompagna a fenomeni di "flare-up", come nei casi di infezione con virus B; 3) oltre il 50% dei pazienti risponde al trattamento, ma spesso la risposta è transitoria.

Studi randomizzati controllati

In letteratura sono pubblicati i risultati di quattro studi controllati in pazienti con epatite cronica C (40-43). Le caratteristiche di questi studi sono schematizzate nella **Tabella 7**. Tuttavia solo due studi (Davis e Di Bisceglie) hanno dimensioni e disegno adeguati allo scopo. In questi due studi dal 28 al 45% dei pazienti trattati risponde alla terapia, normalizzando o riducendo significativamente le transaminasi nel volgere di 3 mesi. Benchè una quota minore (8%) di soggetti non trattati ha mostrato miglioramento spontaneo, la differenza tra controlli e trattati era sempre statisticamente significativa. La percentuale di risposta appare direttamente proporzionale alla dose

somministrata. La probabilità, di rispondere completamente o parzialmente al trattamento è superiore per i pazienti trattati con 3 MU rispetto a quelli trattati con 1 MU (46 vs 28%; $p < 0.001$). L'epatite recidiva in oltre il 50% dei pazienti dopo la sospensione del trattamento (Tabella 8). La recidiva di solito compare nei primi tre mesi dalla sospensione del farmaco. Entrambi gli studi riportano un miglioramento significativo di alcuni parametri istologici di attività della malattia attribuibili al trattamento (Tabella 9). Un dato apparentemente incoraggiante è il riscontro di miglioramento istologico anche in pazienti che non avevano risposto clinicamente all'interferone (43). La presenza di anticorpi neutralizzanti l'interferone, era dose correlata (7-15%) e non influenzava la risposta al trattamento. Numerosi studi controllati in pubblicazione confermano l'alta percentuale di risposta e di recidiva nei pazienti trattati con interferone. In alcuni studi sono stati identificati alcuni fattori predittivi di risposta favorevole alla terapia come il sesso femminile, l'età giovanile, la breve durata della malattia e l'assenza di cirrosi. Più del 50% dei pazienti trattati con interferone ha sviluppato sindrome simil-influenzale, sensibile al trattamento con paracetamolo e destinata a scomparire spontaneamente nel proseguo del trattamento. La leucopenia e granulocitopenia che possono comparire durante terapia con interferone sono dose dipendenti e revertano dopo la sospensione del farmaco. In alcuni pazienti sottoposti a lunghi cicli di terapia è stata segnalata la comparsa di sintomi psichiatrici, alopecia ed alterazioni tiroidee di tipo autoimmune (44).

Conclusioni

L'interferon somministrato per via intramuscolare a dosi di 2-3 MU 3 volte la settimana per almeno sei mesi, migliora il quadro clinico-laboratoristico nel 50% dei pazienti con epatite cronica C. In molti casi il trattamento sembra attenuare anche l'infiammazione istologica. Tuttavia la percentuale di pazienti che rispondono permanentemente al trattamento è inferiore al 50%. La terapia a basse dosi è sicura e generalmente ben tollerata. Dalla pubblicazione degli studi in corso sarà possibile estrapolare se dosaggi di interferon superiori a 3 MU e un trattamento prolungato a 12-18 mesi aumentano la percentuale di risposta al farmaco. E' ancora da determinare l'effetto a lungo termine della terapia sulla storia naturale della malattia, cioè se il trattamento è in grado o no di prevenire la cirrosi e l'epatocarcinoma, nè è ancora noto l'effetto della terapia sulla biologia dell'HCV. Infine, è necessario estendere lo studio dell'impiego dell'interferone ad altri gruppi di pazienti con infezione C, come pazienti coinfectati con virus dell'immunodeficienza (HIV) e i pazienti con infezione acuta HCV.

TABELLA 1: DATI CUMULATIVI DI 8 STUDI CONDOTTI TRA 1977-1983 SULLA EVOLUZIONE DELLA EPATITE TRASFUSIONALE NON-A, NON-B

<u>PAZIENTI CON ALT ELEVATE OLTRE UN ANNO</u>	<u>EVOLUZIONE ISTOLOGICA</u>
47%	39% ECP 41% ECA 20% Cirrosi
N°pazienti studiati 339	N°pazienti biopsiati 102

ECP: epatite cronica persistente; ECA:epatite cronica attiva

TABELLA 2: CRONICIZZAZIONE DELLA INFEZIONE SPORADICA NON-A, NON-B

<u>Autore</u>	<u>Nazione</u>	<u>Pazienti</u> n°	<u>Epatite cronica</u> %	<u>Cirrosi</u> %
G.Norkans	Svezia	56	7	25
J.Rakela	USA	27	34	0
M.Bamber	Inghilterra	22	27	50
P.Kryger	Danimarca	94	16	8
M.Alter	USA	23	65	11
J.Jovè	Spagna	25	46	-

TABELLA 3: EVOLUZIONE DI UN CASO DI EPATITE TRASFUSIONALE
NON-A, NON-B IN CARCINOMA EPATOCELLULARE.

Maschio, 39 anni

1960	Epatite trasfusionale NANB
1965	1° biopsia= epatite cronica lobulare
1966	2° biopsia= epatite cronica persistente
1967	3° biopsia= epatite cronica attiva
1973	4° biopsia= epatite cronica + setti
1975	5° biopsia= cirrosi attiva
1977	Aumento AFP e diagnosi arteriografica di carcinoma epatico
1979	Autopsia: Epatocarcinoma ben-differenziato

TABELLA 4 : PREVALENZA DI ANTI-HCV NEI PAZIENTI CON
CARCINOMA EPATICO

<u>Autore</u>	<u>Paese</u>	<u>No Pazienti</u>	<u>No Anti-HCV</u>	<u>Condizioni Associate</u>
Chiararamonte	Italia	60	36 (60%)	Cirrosi
Ducieux	Francia	74	21 (28%)	HBV
Sbolli	Italia	78	46 (61%)	HBV
Vargas	Spagna	81	44 (54%)	Alcol
Bruix	Spagna	96	72 (75%)	Alcol
Colombo	Italia	132	86 (65%)	HBV
Dazza	Africa	189	69 (37%)	Nessuna
Simonetti	Italia	200	152 (76%)	Cirrosi
Kew	S.Africa	380	110 (29%)	Sesso F, età avanzata, origine urbana.

TABELLA 5: APPROCCI PER RIDURRE L'INCIDENZA DI EPATITE TRASFUSIONALE C

- I Ridurre il volume trasfusionale
Autotrasfusione
- II Sviluppare immunità nel ricevente
Immunoglobuline
- III Sviluppare tests specifici per NANB
Anti-HCV
- IV Inattivazione dei virus
Calore: secco, umido
Solventi lipidici, cloroformio
TNBP + colati
Reazioni fotochimiche (BPL+UV)

TABELLA 6 CARATTERISTICHE CHIMICHE, FISICHE E BIOLOGICHE DEGLI INTERFERONI.

<u>Caratteristiche</u>	<u>Interferone</u>		
	<u>alfa</u>	<u>beta</u>	<u>gamma</u>
N. di geni	23	1	1
Localizzazione* cromosomica	9	9	12
Peso molecolare (KD)	20	23	17-25
N. di amminoacidi	165-166	166	143
pH	stabile	stabile	labile
Origine cellulare	monociti linfociti B	fibroblasti	linfociti T
Sostanze inducenti	virus	ds RNA virus	antigeni mitogeni

* numero cromosoma

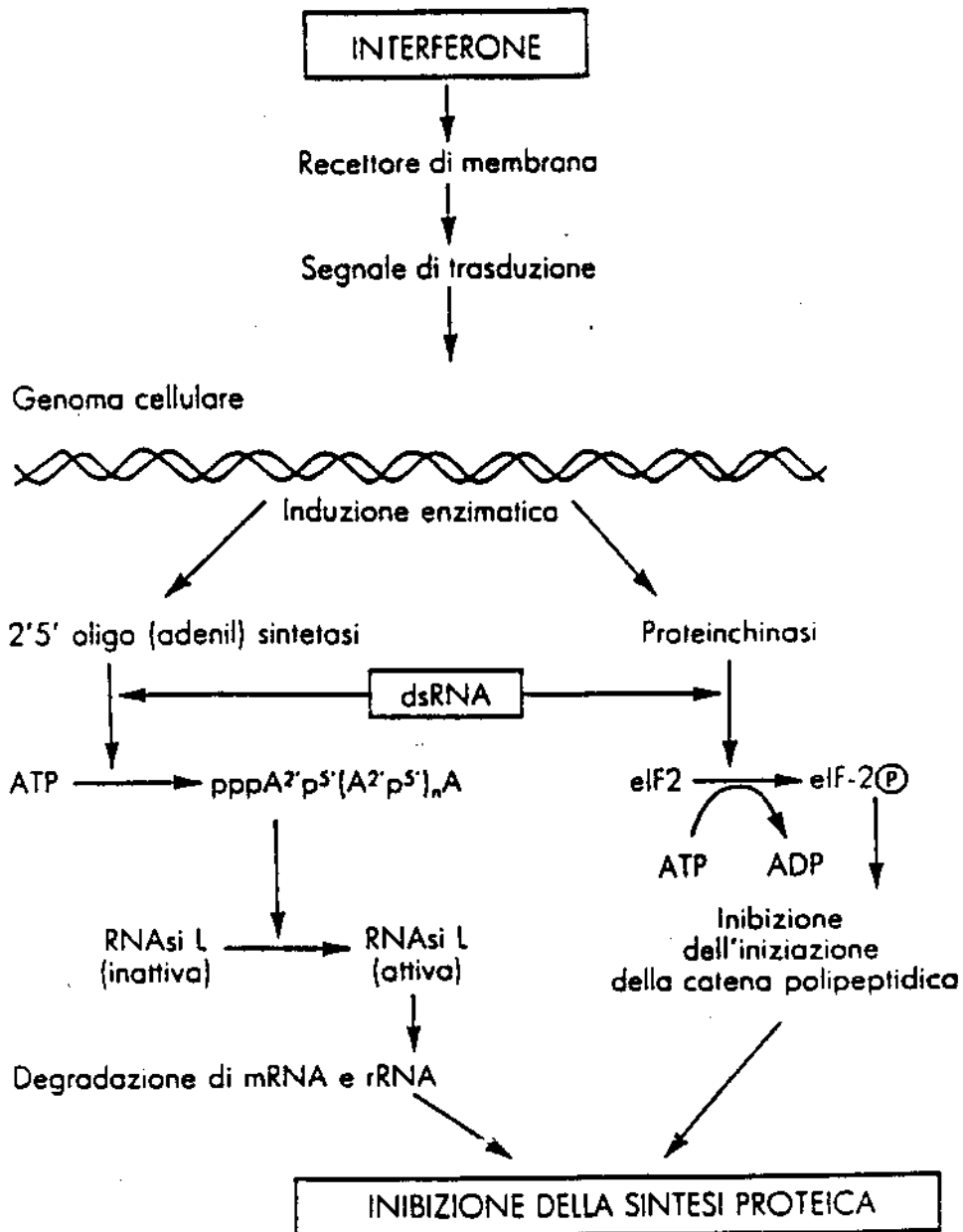


Figura 1. Meccanismo di inibizione della sintesi proteica in cellule infettate da virus ed esposte a interferone.

TABELLA 7 STUDI CONTROLLATI SUL TRATTAMENTO CON INTERFERON DELL'EPATITE CRONICA NON-A, NON-B

Autori*	Numero pazienti	Anti-HCV (%)	Istologia (%)	Tipo IFN	Dose IFN (MUx3xsett)	Durata trattamento (mesi)
Jacyna	14	NE	ECL 31 ECA 46 C 23	naturale	5	4
Schvarcz	33	67	ECP 30 ECA 70	alfa 2	3	9
Di Bisceglie	41	90	ECP 8 ECA 75 C 17	alfa 2	2	6
Davis	166	86	ECP 16 ECA 75 C 59	alfa 2	3 vs 1	6

* Tutti gli studi sono stati pubblicati nel 1989

ECL= epatite cronica lobulare ECP= epatite cronica persistente

ECA= epatite cronica attiva C = cirrosi

NE = non eseguito

TABELLA 8 RISULTATI DEL TRATTAMENTO CON INTERFERONE DELL'EPATITE CRONICA C

Autori		Risposta (%)			Recidiva (%)
		CR	PR	Totale	
Jacyna	NT	0	0	0	--
	T	71	29	100	NR
Schvarcz	NT	0	33	33	--
	T	58	21	79	64
Di Bisceglie	NT	0	0	0	--
	T	-	-	33	90
Davis	NT	4	4	8	--
	T1	16	12	28	44
	T2	38	7	45	51

NT= non trattato

T= trattato

CR= risposta completa

PR= risposta parziale

NR= non riferito

T1= 1 MU

T2= 3 MU

TABELLA 9 EFFETTI DELL'INTERFERON SULL'INFIAMMAZIONE EPATICA VALUTATA ISTOLOGICAMENTE.

<u>Parametri istologici</u>	<u>Studio Davis</u>	<u>Studio Di Bisceglie</u>
Necrosi piecemeal	NS*	p<0.01
Infiammazione lobulare	p<0.01**	p<0.006
Infiammazione portale	NS	NS
Fibrosi	NS	NS

* differenze non significative in entrambi i gruppi di trattamento

** differenze significative in entrambi i gruppi di trattamento

BIBLIOGRAFIA

- 1) Tremolada F, Chiappetta F, Noventa F, et al. Prospective study of post-transfusion hepatitis after cardiac surgery in patients receiving only blood or also blood products. *Vox Sang* 1983; 44,25-30
- 2) Colombo M, Oldani S, Donato MF. et al. A multicenter, prospective study of posttransfusion hepatitis in Milan. *Hepatology* 1987; 7,709-712
- 3) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244:359-62
- 4) Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-64
- 5) Dienstag JL. Non-A, non-B hepatitis. I. Recognition, epidemiology, and clinical features. *Gastroenterology* 1983; 85, 439-462
- 6) Dienstag JL, Alter HJ. Non-A non-B hepatitis: evolving epidemiologic and clinical perspectives. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 67-81
- 7) Realdi G, Alberti A, Rugge M et al. Long-term follow-up of acute and chronic non-A, non-B post-trasfusion hepatitis: evidence of progression to liver cirrhosis. *Gut* 1982; 23,270-275
- 8) Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A , non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989; 321: 1494-500
- 9) Rumi MG, Colombo M, Gringeri MD, Mannucci PM. High prevalence of antibody to hepatitis C virus in multitransfused hemophiliacs with normal transaminases. *Ann Intern Med* 1990; 112:379-380.
- 10) Prince AM, Brotman B, Nelles MJ. Distinction between chronic and self-limited forms of hepatitis virus infection. The 1990 International Symposium on viral hepatitis and Liver Disease. Houston 1990; abstract 369: 142.

- 11) Hay CRM, Preston FE, Triger DR, Underwood JCE. Progressive liver disease in haemophilia: an understated problem? *Lancet* 1985; 1: 1495-1498.
- 12) Kiyosawa K, Akakane Y, Nagata A et al. Hepatocellular carcinoma after non-A, non-B post-transfusion hepatitis. *Am J Gastroenterol.* 1984, 79: 777-781.
- 13) Kiyosawa K, Sodeyama, Tanaka E et al. Hepatocellular carcinoma. The causal relation between non-A, non-B hepatocellular carcinoma (HCC) after post transfusion hepatitis and hepatitis C virus. The 1990 International Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, 1990, 632: 221.
- 14) Simonetti RG, Cottone M, Craxi A et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 2: 1338, 1989.
- 15) Chiaramonte M, Farinati F, Fagioli S et al. Antibody to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 1990, 1: 300-301.
- 16) Bruix J, Barrera JM, Calvet X et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Lancet*, 1989, 2: 1004-1006.
- 17) Vargas V, Castells L, Esteban JI. High frequency of antibodies to hepatitis C virus among patients with hepatocellular carcinoma. *Ann Intern Med*, 1990, 3: 232-233.
- 18) Ducreux M, Buffet C, Dussaix EA et al. Antibody to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 1990, 1: 301.
- 19) Colombo M, Kuo G, Choo QL et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1989, 2: 1006-1009.
- 20) Dazza MC, Meneses LV, Girard PM et al. Brechot C, Laronzè B. Hepatitis C antibody and hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 1990, 1: 1216.
- 21) Kew MC, Houghton M, Choo QL et al. Kuo G. Hepatitis C virus antibodies in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 1990; 1: 873-874

- 22)Sbolli G, Zanetti AR, Tanzi E et al. Serum antibody to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *J. Med. Virol* 1990; 30: 230-232
- 23)Kaneko S, Vnonza M, Murakami S et al. Sequence analysis of hepatitis C virus genomes isolated from 5 patients with chronic non-A, non-B Hepatitis. *Proceedings of the 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease Houston, April 4-8, 1990*, 138.
- 24)Mosley JW, Aach RD, Hollinger FB et al . Non-A, non-B Hepatitis and Antibody to Hepatitis C Virus. *JAMA* 1990, 263: 77-78.
- 25)Stevens CE, Taylor PE, Pindyck J. et al Epidemiology of Hepatitis C Virus. A Preliminary Study in Volunteer Blood Donors. *JAMA* 1990; 265: 49-53.
- 26)Van der Poel CL, Reesink HW, Lele PN et al. Anti-hepatitis C antibodies and non-A, non-B post-transfusion hepatitis in Netherlands. *Lancet* 1989; 2: 297-299.
- 27)Mannucci PM, Colombo M. Revision of the Protocol Recommended for Studies of safety from hepatitis of clotting factor concentrats. *Trombosis and haemostasis*; 1989; 61: 532-534.
- 28)Hoofnagle JH. Chronic hepatitis. The role of corticosteroids. In Szmunes W, Alter HJ, Maynard JE (eds): *Viral Hepatitis*. 1981 International Symposium, Philadelphia: Franklin Institute Press 1981;573-583
- 29)Pappas SC, Hoofnagle JH, Young N et al. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with acyclovir: Pilot study. *J. Med. Virol* 1985; 15,1-9
- 30)Vallbracht A, Flehmig B. Elimination of a persistent hepatitis A infection in cell cultures by interferon. In Kirchner H, Schellekens H (eds) "*The Biology of the Interferon System*". New York: Elsevier,1985; 399-345
- 31)Balkwill FR. Interferons. *Lancet* 1989;1,1060-1063

- 32) Davis GL, Hoofnagle JH. Interferon in viral hepatitis: role in pathogenesis and treatment. *Hepatology* 1986;6,1038-41
- 33) Perrillo RP. Editorial. Interferon Therapy for Chronic Type B Hepatitis: The Promise Comes of Age. *Gastroenterology* 1989; 96,532-6
- 34) Kirchner H. Interferons, a group of multiple lymphokines. *Springer Semin. Immunopathol.* 1984; 7,347-74
- 35) Hoofnagle JH, Mullen R, Jones B et al. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon . A preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315,1575-1578
- 36) JH Hoofnagle. Management of post-transfusion hepatitis. *Transfusion Med. Rev.* 1989; 2,215-220
- 37) Thomson BJ, Doran M, Lever AMI, Webster ADB. Alpha-interferon therapy for non-A, non-B hepatitis transmitted by gammaglobulin replacement therapy. *Lancet* 1987; 1,539-541
- 38) Kiyosawa K, Sodeyama T, Yoda H. et al. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with beta-interferon. In: A.J.Zuckerman (ed). *Viral Hepatitis and Liver disease.* Alan R. Liss. Inc. 1988; 895-897
- 39) Arima T, Nagashima H, Shimomura H et al. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with human beta-interferon. In: A.J.Zuckerman (ed). *Viral Hepatitis and Liver disease.* Alan R. Liss. Inc. 1988; 898-901
- 40) Jacyna MR, Brooks MG, Loke RHT et al. Randomized controlled trial of interferon alfa (lymphoblastoid interferon) in chronic non-A, non-B hepatitis. *Br. Med. J.* 1989; 298,80-82
- 41) Schvarcz R, Weiland O, Wejstal R et al. A randomized controlled open study of interferon alpha-2b treatment of chronic non-A, non-B post-transfusion hepatitis: no correlation of outcome to presence of hepatitis C virus antibodies. *Scand. J. Infect Dis.* 1989; 21,6,617-625
- 42) Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C et al. Recombinant interferon of alfa-therapy for chronic hepatitis C. *N. Engl. J. Med.* 1989;22,1506-1510

43) Davis GL, Balart LA, Schiff ER et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. N. Engl. J. Med. 1989; 22,1501-1505

44) Renault PF, Hoofnagle JH. Side effects of alpha-interferon. Semin Liver Disease 1989; 9,4,273-277

EPATITE C E TRASFUSIONE

G.de Stasio

Servizio di Immunoematologia e Trasfusione
Ospedale "Di Venere" Bari-Carbonara

Nel 1969 Goldfield e coll. (1), in uno studio prospettico di 6 mesi sui riceventi di emotrasfusioni, rilevarono che quasi il 90 % dei casi di epatite post-trasfusionale (EPT) non era attribuibile al virus B dell'epatite. Alle stesse conclusioni pervennero numerosi altri studi successivi (2,3,4,5,6).

Oggi e' noto che il virus A e' causa di epatite post-trasfusionale in rarissimi casi (7,8), e che il virus B dell'epatite e' responsabile del 10-15 % di tutti i casi di EPT (3). Nella maggior parte dei casi di epatite associata a trasfusione sono in causa virus denominati non-A, non-B (NANB) (9).

Fino ad ora si e' posta diagnosi di epatite post-trasfusionale NANB quando, in un paziente trasfuso 14-180 giorni prima, si rilevava in almeno due determinazioni consecutive un aumento dell'ALT di almeno due volte i limiti superiori di riferimento (10). Per la diagnosi era indispensabile la esclusione sierologica di altre forme di epatite (da HAV, HBV, HDV, CMV, EBV,) e di altre condizioni di danno epatico (disordini autoimmuni, alcoolismo, insufficienza cardiaca di tipo congestizio, assunzione di sostanze epatotossiche) (11).

L'EPT dopo infusione di sangue od emocomponenti ha in genere un periodo di incubazione di 6-12 settimane (12), mentre le forme conseguenti ad infusione di fattori della coagulazione hanno un'incubazione piu' breve, di 2-4 settimane (13). Queste due forme di incubazione, lunga e breve, dell'epatite NANB deporrebbero per l'esistenza di due diversi agenti eziologici NANB. Gli esperimenti di infezione dello scimpanze' confermerebbero questa ipotesi (14,15).

Il primo agente virale, sensibile al cloroformio, induce la formazione di strutture tubulari nel reticolo endoplasmico del citoplasma degli epatociti. Mediante studi controllati di filtrazione si e' visto che il suo diametro e' compreso fra i 30 e i 60 nm. Nessuna particella virale e' stata ancora osservata al microscopio elettronico, neanche nel tessuto epatico con una carica infettante molto elevata, per cui la caratterizzazione biofisica di questo virus e' per il momento solo parziale.

Il secondo virus NANB non induce alterazioni tubulari

nel fegato, e' resistente al cloroformio, e le sue particelle virali avrebbero un diametro di 27-30 nm (16,17). Questo secondo virus puo' causare epatite negli emofilici che hanno superato un episodio di epatite NANB trasmessa con il sangue (18). Alcune osservazioni sperimentali nello scimpanze', pero', hanno dimostrato che e' possibile reinfeettare l'animale con lo stesso inoculo di virus NANB, se si aumenta la dose di 100 volte (19), il che farebbe cadere l'ipotesi di due virus NANB distinti, implicati nella trasmissione parenterale.

Molte evidenze cliniche sembrano portare alla conclusione che piu' virus possano essere responsabili di un quadro di epatite definito NANB (6,17,20). Per esempio, tossicodipendenti ed emofilici presentano spesso diversi episodi acuti di epatite NANB (21,22,23) che non possono essere interpretati come esacerbazioni cliniche intermittenti di un'infezione cronica, quiescente, perche' le biopsie epatiche parlano per quadri di epatiti acute, senza segni istologici di malattia epatica cronica.

Una quota imprecisata di EPT NANB e' certamente dovuta ad una variante del virus B (24). Anticorpi monoclonali ad alta affinita' e sonde di DNA per l'HBV hanno rivelato determinanti antigenici specifici e frazioni di acido nucleico parzialmente omologhe nei sieri e nel fegato sia dei pazienti che dei donatori implicati, come pure degli scimpanze' infettati sperimentalmente (25,26).

E' stato anche ipotizzato che nelle epatiti NANB possa essere in causa un retrovirus. Seto e coll. (27) hanno segnalato la presenza di trascrittasi inversa nel siero dei soggetti infettati, il che concorderebbe con l'evidenza di particelle retrovirali negli epatociti (28) e con la presenza di una glicoproteina antigenica correlata con il virus (29). Il significato di queste osservazioni e il ruolo potenziale dei retrovirus nelle epatiti NANB sono, pero', ancora da esplorare.

CLONAGGIO MOLECOLARE DEL GENOMA DELL'HCV

Nonostante siano stati riportati in letteratura numerosi sistemi antigene/anticorpo associati con l'epatite NANB (30,31,32,33,34, 35), i metodi di laboratorio per la ricerca dell'agente o degli agenti etiologici dell'epatite NANB si sono dimostrati poco sensibili, non specifici e scarsamente riproducibili. Cio' perche' i virus interessati sono scarsamente immunogenici

e la quantità di antigene circolante è molto bassa. Inoltre, la viremia durante la fase di incubazione della malattia è molto breve e, quindi, insufficiente a stimolare una vivace risposta anticorpale ad alto titolo.

Un'importante serie di studi sugli scimpanzé aveva dimostrato chiaramente la presenza di un agente trasmissibile in prodotti ematici e nel siero di donatori di sangue, portatori (36).

L'agente si dimostrava sensibile ai solventi organici ed aveva dimensioni inferiori agli 80 nanometri, sulla base di valutazioni effettuate mediante studi di filtrazione. Pur in assenza di studi di virologia convenzionale, Bradley aveva avanzato l'ipotesi che l'agente dell'epatite non-A, non-B fosse un piccolo virus capsulato ad RNA simile a un togavirus (37).

Solo nel 1989 M. Houghton e coll. della Chiron Corporation, aderendo all'ipotesi di Bradley sul virus, hanno impiegato come materiale di partenza grosse quantità di plasma di scimpanzé, altamente infettivo (38). Il virus è stato concentrato mediante ultracentrifugazione, ne è stato estratto l'acido nucleico, ed è stato sintetizzato dall'RNA il DNA complementare (cDNA) mediante trascrittasi inversa. Il cDNA è stato poi clonato nel batteriofago lambda gt 11 che ha permesso l'espressione del cDNA clonato nel polipeptide codificato. Partendo dall'assunto che un raro clone cDNA avrebbe espresso quantità sostanziali di antigene virale NANB e che i pazienti con epatite NANB potevano avere in circolo il corrispondente anticorpo, è stato effettuato uno screening della libreria di cDNA con il siero diluito di un paziente con epatite cronica NANB. Dopo aver esaminato circa un milione di cloni, è stata individuata una colonia batterica infettata da un fago che produceva una proteina che reagiva con il siero del paziente.

Un inserto di 155 coppie di basi di questo clone è stato poi staccato e utilizzato nelle tecniche di ibridizzazione per estrarre, dalla libreria originale, un clone sovrapponibile di maggiori dimensioni, cioè di 353 coppie di basi.

La tecnica di ibridazione prevede l'appaiamento di sequenze genomiche complementari tra un frammento di genoma sconosciuto ed una sonda genomica che rivela l'avvenuto appaiamento mediante un tracciante radioattivo o enzimatico. Il DNA da testare viene trasferito su filtro di nitrocellulosa o di nylon, su cui si lega stabilmente. Se la sequenza di DNA in esame è complementare alla sonda impiegata, si forma un ibrido che

si rivela come macchia su pellicola autoradiografica o come macchia di colore, se il tracciante è enzimatico.

Del DNA clonato, nessuna delle due eliche ibridizzava con DNA umano o di scimpanze, mentre una delle eliche era omologa ad un RNA ad elica singola contenente fino a 10.000 nucleotidi, ottenuto dall'ultracentrifugato ricco di virus ricavato dal siero originale di scimpanze. Fu possibile concludere che il clone derivava dal genoma dell'agente virale NANB, che fu chiamato virus C dell'epatite (HCV).

Il cDNA ibridizzava anche con l'RNA di fegato di scimpanze infettato, ma non di fegato normale.

La sequenza nucleotidica osservata in questo e in altri due cloni sovrapponibili della "library" esprimeva un'ORF (open reading frame = schema aperto di lettura), cioè una regione di codifica per un antigene associato all'infezione da virus NANB. L'HCV sembra codificare per una grande poliproteina precursore, da cui derivano specifiche proteine virali.

Successivamente è stata inserita questa sequenza di DNA in un plasmide contenente il gene della superossido-dismutasi (SOD) umana, allo scopo di produrre grandi quantità del polipeptide finale.

La fusione con il gene della SOD facilita l'espressione di proteine estranee nei lieviti e nei batteri ricombinanti.

I plasmidi sono organismi subcellulari contenenti DNA extracromosomiale a doppia elica, che in genere codifica per alcuni enzimi, e vengono utilizzati come vettori per introdurre del genoma all'interno di cellule.

La proteina di fusione così prodotta (C100-3), espressa in batteri, contenente 363 aminoacidi virali, reagisce all'immunoblotting con il siero di pazienti con infezione NANB. Essa non sembra essere una proteina strutturale del virione, ma rappresenta, forse, una parte dei "domains" non strutturali 3 e 4 della poliproteina dell'HCV.

Quantità maggiori della proteina di fusione, sono state ottenute con colture di lieviti ricombinanti e impiegate per rivestire i pozzetti di micropiastre.

Inizialmente, per scopi di ricerca, è stato allestito un test radioimmunologico, successivamente, è stato sviluppato un test commerciale immunoenzimatico.

I risultati ottenuti con questo test, introdotto sul mercato mondiale nell'agosto 1989, dimostrano che ha una buona sensibilità e specificità verso anticorpi virali presenti nelle infezioni NANB (39). Altri studi, poi, hanno messo in evidenza che l'HCV non solo

rappresenta la causa maggiore (forse l'unica) dell'EPT NANB, ma anche la causa maggiore dell'epatite NANB sporadica, la cosiddetta "community acquired" (40,41, 42,43,44,45).

CARATTERISTICHE CLINICHE DELL'EPT NANB

L'epatite virale e' la complicanza piu' frequente della trasfusione di sangue. In USA, dal 7 al 10 % dei riceventi di una trasfusione sviluppava un'epatite, prima che fosse introdotto lo screening dei donatori per l'ALT e l'anti-HBc (44). In Italia, i pochi studi pubblicati hanno riferito un'incidenza del 10-14 %, con un 90 % di epatiti NANB (46,47).

Il periodo di incubazione dell'epatite post-trasfusionale non-A, non-B varia da 5 giorni a 26 settimane, ma nella stragrande maggioranza dei casi e' compreso fra le 6-12 settimane.

Il quadro clinico acuto e' piu' benigno rispetto alle altre epatiti da agenti virali noti (48,49), e l'ittero compare solo nel 25 % dei casi (50,51). La malattia assume andamento grave in meno del 10 % dei casi (15). L'epatite fulminante e' un evento estremamente raro. Puo' aversi nei soggetti immunocompromessi, quali i trapiantati di rene (52) o i neonati (53).

La rara anemia aplastica post-epatitica puo' essere piu' frequente dopo epatite NANB, soprattutto nella forma post-trasfusionale, che dopo epatite A o B (54, 55).

I sintomi piu' frequenti sono astenia e anoressia. A differenza dell'epatite B, non sono frequenti i segni prodromici quali artralgie, mialgie, esantemi orticarioidi (10). Anche rari sono il prurito e gli altri segni della colostasi. Raramente la bilirubina totale supera i 10 mg/dl. L'aumento dell'ALT nel siero segue tre "pattern" diversi (48,56):

- un tipo, molto frequente, con fluttuazioni delle transaminasi, in cui lunghi periodi di ALT normali sono intervallati da rialzi distinti e ricorrenti;
- un tipo, meno frequente, in cui i pazienti accusano solo un picco monofasico dell'ALT, seguito da completa normalizzazione dei livelli dell'enzima;
- un terzo tipo a "plateau", con un aumento modesto e senza oscillazioni della transaminasemia, che si riduce gradualmente fino a valori normali.

L'aumento dell'ALT persiste per oltre 1 anno in circa il 50 % dei pazienti. La biopsia epatica mette in evidenza nella maggioranza dei casi una epatite cronica persistente o un'epatite cronica attiva, con i segni

istologici di una cirrosi nel 15-20 % dei casi (15).

La cirrosi ha in genere un decorso clinico lentamente evolutivo, ma una certa mortalità correlata all'epatopatia si osserva, ed è del 5-10 % nei pazienti con emofilia (15). Non si conosce il tempo minimo necessario perché un'infezione NANB evolva in cirrosi, ma sembra che vari da soggetto a soggetto. È di 10-15 anni nei politrasfusi, più breve negli immunodepressi. Negli emofilici la cirrosi può intervenire dopo soli 2-7 anni. Nei trapiantati di rene, la morte per cirrosi epatica può intervenire dopo 5-10 anni.

Quale sia la quota di pazienti che evolve in carcinoma epatocellulare non è noto, ma circa il 60 % dei pazienti con epatocarcinoma è anti-HCV positivo, il che fa supporre che anche questo virus come l'HBV abbia un ruolo in questa patologia. Secondo prime valutazioni circa il 5% dei pazienti con cirrosi NANB sviluppa ogni anno epatocarcinoma, dopo un intervallo medio di 20 anni.

La progressione verso lo stato cronico è caratterizzata da fluttuazioni del livello delle transaminasi, alternandosi periodi di transaminasemia elevata a periodi di normalizzazione o quasi per la durata di mesi o anni (57,58). Fino al 60-70 % dei pazienti può presentare livelli elevati di attività alanina-trasferasi del siero 6 mesi dopo l'inizio dell'infezione. Per questo motivo si considera un'epatite NANB guarita solo quando la ALT rimane normale per almeno 6 mesi consecutivi (59).

La malattia cronica può evolvere in senso favorevole (60). Nel giro di 1-3 anni può aversi il miglioramento spontaneo dei parametri bioumorali. Alcuni pazienti, però, sviluppano una grave insufficienza epatica con ipertensione portale ed encefalopatia (60,61).

L'incidenza della cirrosi passa dal 20 al 50 % nei pazienti in emodialisi e nei trapiantati di rene immunodepressi. Gli anticorpi antinucleo, antimuscolo liscio e anti-mitocondrio sono invariabilmente negativi.

PREVENZIONE

Finora, in mancanza di test sierologici per la identificazione dei portatori di virus NANB, la prevenzione dell'epatite post-trasfusionale NANB si è basata su metodi indiretti.

L'incidenza di questa complicanza della trasfusione può essere ridotta con l'esclusione dalle donazioni di sangue dei datori mercenari (62).

Nel 1973 in USA fu elaborato un progetto, il TTVS (Transfusion-Transmitted Viruses Study) (63), che prevedeva il monitoraggio prospettico di 1500 riceventi di sangue, in confronto ad un gruppo di controllo non sottoposto a trasfusioni. Oltre all'incidenza e alle cause dell'EPT, si voleva valutare l'utilità dei metodi di laboratorio in uso per individuare i portatori di virus (64).

Si vide che il rischio di EPT NANB è direttamente correlato con i livelli sierici di ALT. Il 40 % delle epatiti poteva essere prevenuto scartando le unità di sangue con valori di ALT uguali o superiori a 45 UI/l, cioè il 3 % dei campioni studiati. Fu così che in USA fu proposta la determinazione dell'ALT nei donatori di sangue al fine di ridurre l'incidenza dell'EPT NANB (4,65,66,67,68,69,70,71,72). In Italia, la determinazione delle due transaminasi su tutti i donatori di sangue ad ogni donazione è obbligatoria dal 1971 (73).

Purtroppo, si tratta di un test di funzionalità epatica non specifico che risulta elevato nel 3-4 % dei donatori, spesso per cause ignote. L'esercizio fisico, l'assunzione di alcool e di farmaci, l'obesità possono condurre ad elevazioni dell'ALT (66).

Inoltre, sono stati documentati casi certi di portatori di virus NANB non individuati dalla determinazione dell'ALT e, viceversa, casi di non portatori che sono stati allontanati dalle donazioni (74).

Nonostante la determinazione dei livelli sierici di ALT abbia un valore predittivo non superiore al 40 % (36), per i molti falsi positivi e falsi negativi del test, sono molte le voci autorevoli della letteratura che ne raccomandano il dosaggio nei donatori per ridurre l'incidenza dell'EPT NANB (67,69,70,71,72). Ogni misura che riduca anche di poco l'incidenza di questa temibile complicanza sembra giustificata.

L'aumento dei livelli dell'antigene carcinoembrionario (CEA) e degli acidi biliari nel siero è stato associato con l'epatite NANB, per cui si era pensato a questi analiti come possibili marcatori nello screening dei donatori di sangue portatori di virus NANB (75,76). I risultati conseguiti non sono stati pari alle attese (76).

Un altro approccio suggerito per identificare i portatori di virus NANB è quello di ricercare nei donatori di sangue l'anticorpo verso l'antigene del core dell'epatite B (anti-HBc) (77).

Infatti, gli studi su popolazioni ad alto rischio hanno dimostrato che frequentemente l'epatite A, B e

NANB si presentano in tempi diversi nella stessa persona, per cui e' probabile che un donatore con anti-HBc possa essere portatore di altri virus epatitici (78). Alter e coll. (66) hanno dimostrato che i donatori con ipertransaminasemia ALT hanno maggiori probabilita' di presentare l'anti-HBc nel siero, rispetto ai soggetti con valori normali di alanino-aminotrasferasi. Evidentemente, fattori epidemiologici comuni sono alla base della associazione dei marcatori epatitici B con gli agenti patogeni dell'epatite NANB.

Questa misura preventiva ha gli stessi svantaggi dello screening ALT nei donatori di sangue, e', cioe', aspecifica, costosa e porta all'allontanamento dalle donazioni di soggetti sani. L'alta prevalenza di questo marcatore, che in Italia e' superiore al 20% (36% nella popolazione di donatori afferente al nostro Servizio trasfusionale), ha reso inattuabile lo screening anti-HBc dei donatori nel nostro Paese, sia per lo scarto troppo alto di donatori, che per la non confermata correlazione con l'EPT NANB, e per l'elevato rapporto costi/benefici.

Il valore predittivo dei test surrogati e' un argomento ampiamente dibattuto, oggetto di molte controversie, soprattutto dopo l'introduzione del test di screening anti-HCV su tutte le donazioni di sangue. Ci si chiede se vale la pena continuare ad eseguire i test surrogati, considerata la loro non provata efficacia negli studi prospettici e la perdita elevata di donatori.

In uno studio condotto a Minneapolis, 481 donatori anti-HBc positivi (3520 donazioni) erano implicati solo in quattro casi di EPT (79). Un altro studio eseguito in Germania occidentale ha riportato che, in donatori con livelli normali di ALT, il rischio di trasmettere una epatite NANB era 5 volte maggiore se l'unita' era anti-HBc positiva (80). Questi ed altri risultati contraddittori (81,82) possono indicare reali differenze nell'epidemiologia dell'HCV nelle diverse aree geografiche, oppure possono riflettere differenze nella selezione dei campioni. Bisogna considerare, poi, che reattivita' anti-HBc, specialmente se a basso titolo, non sempre sono confermate con altre metodiche (83,84), il che puo' spiegare la variabilita' dei risultati.

Un primo studio prospettico, randomizzato, condotto per valutare l'efficacia dei test surrogati nella prevenzione dell'EPT NANB, non ha dimostrato una riduzione significativa nell'incidenza dell'epatite NANB associata a trasfusione (85).

I dati cumulativi dei primi studi sulla prevalenza anti-HCV nei donatori, in relazione ai test surrogati, presentati al primo simposio internazionale sul virus C dell'epatite di Roma (86), sebbene preliminari, hanno dimostrato che il 74 % dei donatori HCV-reattivi non presentava alcun marcatore surrogato. Tra i soggetti anti-HCV reattivi, l'ALT risultava essere presente nel 21,0 %, mentre l'anti-HBc nel 9,6%, ma solo il 26% presentava uno o entrambi i marcatori surrogati NANB (86). Analizzando separatamente i dati europei solo il 2 % dei donatori anti-HCV reattivi era anti-HBc positivo, mentre il 20% di essi presentava ALT elevata. Quando venivano prese in esami coorti di donatori con markers surrogati, sia statunitensi che europei, in relazione alla reattività anti-HCV, si vedeva che la prevalenza dell'anticorpo era del 5,3% nei donatori con ALT elevata, e del 2,5% nei donatori con anti-HBc, ma molto più alta nei donatori con entrambi i marcatori surrogati (36,7%). Questa osservazione, insieme con quella di Koziol e coll. (71) in cui il 33% dei riceventi di sangue positivo per entrambi i marcatori sviluppava un'EPT NANB, potrebbe significare che quando sono positivi entrambi i test surrogati, i donatori anti-HCV reattivi sono infettanti.

Lo screening per i test surrogati, ALT e anti-HBc, porta ad escludere il 30 -40% dei donatori reattivi al test dell'anti-HCV, ma la maggioranza dei donatori con aumento isolato dell'ALT o con anti-HBc nel siero probabilmente comporta un rischio molto basso di trasmettere un'epatite NANB (87). Quando entrambi i marcatori surrogati sono positivi, la probabilità della positività anti-HCV è molto alta (87).

Ogni conclusione al riguardo è per il momento prematura. Solo gli studi prospettici e i test di conferma per identificare i veri anti-HCV positivi potranno chiarire se i test surrogati sono efficaci o meno nella prevenzione dell'EPT NANB.

Alcuni Autori hanno riferito che l'incidenza dell'EPT NANB è significativamente più alta nei riceventi di sangue proveniente da donatori con alta attività di guanasi nel siero (88,89). La determinazione dell'attività della guanasi nel siero è considerata un indicatore di lesione epatocellulare più specifico dell'AST e dell'ALT (90). L'adozione di questo test di screening nei donatori giapponesi ha ridotto l'incidenza dell'EPT dal 17 al 7% (91). Ulteriori studi prospettici serviranno a confermare o meno la validità di questa misura preventiva.

La prevenzione dell'EPT NANB e' stata tentata anche con la somministrazione di immunoglobuline ai riceventi di trasfusioni di sangue, ma i risultati sono stati insoddisfacenti e contraddittori (62,92). Secondo alcuni studi, la possibilita' di ridurre la percentuale di casi itterici di EPT NANB con certi lotti di preparazioni immunoglobuliniche ci sarebbe (93,94).

LO SCREENING ANTI-HCV NEI DONATORI DI SANGUE

La prevalenza dell'anti-HCV nei donatori di sangue americani riferita da Agius e coll. (95) sembra essere inferiore all'1 %.

I primi studi italiani riportano una prevalenza compresa tra 1 e 1,9 %, mentre in Europa la prevalenza varia da 0,23% in Finlandia e 2,2% della Spagna (Barcellona) (86).

In uno studio su donatori della Germania occidentale (44), condotto su una popolazione di donatori sia volontari che remunerati, provenienti da aree urbane e rurali, non e' stato possibile mettere in evidenza una prevalenza diversa tra remunerati e non, e tra donatori di aree rurali e urbane, mentre era presente una differenza nord-sud (0,24 - 0,79%). Questa differenza, osservata anche in uno studio policentrico italiano (96) (nord = 0,68%; sud = 1,37%), ha suggerito agli Autori tedeschi o la presenza di un fattore ambientale nella patogenesi della epatite NANB, o una cross-reattivita' tra HCV e i togavirus (44).

Un'altra interessante ipotesi per spiegare questo effetto nord-sud potrebbe essere quella che un insetto vettore possa essere interessato nella trasmissione dell'HCV, perche' in Germania una meningoencefalite trasmessa da una zecca ha un modello epidemiologico simile. Questa ipotesi si fonda sulla osservazione che la struttura molecolare dell'HCV e' simile a quella di un virus correlato alla famiglia dei togavirus e dei flavivirus, entrambi i quali sono arbovirus, un gruppo di virus che solitamente vengono trasmessi mediante punture di insetti (97). Tutto questo e' inedito per un virus epatitico, anche se un altro arbovirus, il virus della febbre gialla, e' ben noto che sia un agente epatotropico.

Gli studi di sieroprevalenza degli anticorpi HCV fin qui pubblicati hanno confermato la specificita' apparente e la relativa sensibilita' del metodo sviluppato dai laboratori Chiron-Ortho (39,40,42,44,98). Gli anticorpi anti-HCV sono presenti fino all'85% dei pazienti con EPT NANB e nei donatori infetti, e nel 60-

70% o piu' dei pazienti emofilici in trattamento con fattori della coagulazione (40,43,98,99).

In uno studio compiuto in Inghilterra (98), il 22% dei pazienti che aveva ricevuto concentrati di fattori della coagulazione termotrattati era anti-HCV positivo, contro il 67% dei pazienti che aveva ricevuto prodotti non trattati al calore. Secondo gli Autori questa osservazione confermerebbe quanto gia' noto sul trattamento al calore dei concentrati, che riduce ma non abolisce il rischio di epatite NANB (100,101,102).

Ma l'inattivazione virale dei concentrati di fattori della coagulazione, ottenuta sia con la pasteurizzazione (103) che con il trattamento con solvente/detergente (104), e' efficace nel prevenire la trasmissione dell'epatite NANB, come dimostra l'osservazione che nessuno dei pazienti trattati con simili preparati e' risultato infetto con l'HCV (103,104).

L'efficacia del trattamento al calore (80 C per 72 ore) nell'inattivare il virus C dell'epatite e' stata confermata anche da altri studi (105,106).

Nonostante le evidenze che i metodi di inattivazione in uso sono efficaci contro l'HCV, lo screening anti-HCV in Francia e' stato esteso anche al plasma destinato al frazionamento (107). Le argomentazioni addotte da Habibi per giustificare lo screening sembrano convincenti, ma l'FDA (Food and Drug Administration) americana non le condivide (108), per cui non raccomanda per il momento l'esecuzione del test anti-HCV, in attesa che gli esperimenti in corso nello scimpanze' sulla sicurezza delle preparazioni immunoglobuliniche ottenute da plasma screenato, non dimostrino che il test non interferisce negativamente sulla sicurezza dei plasmaderivati.

La scelta dell'FDA nasce dalle seguenti considerazioni:

- il picco della viremia HCV puo' precedere la comparsa dell'anti-HCV;
- lo screening puo' diminuire il numero di unita' infettanti nel pool di plasma, ma non e' detto che riduca la carica virale.

Questa potrebbe paradossalmente aumentare se l'infettivita' media delle unita' falsamente negative (si ritiene che il test anti-HCV sveli circa il 77% delle unita' infettanti) e' piu' alta (>30 volte) di quella delle unita' sieropositive, cosa che puo' accadere se la viremia raggiunge l'acme prima della comparsa dell'anticorpo, e poi si riduce sensibilmente;

- una certa attivita' neutralizzante dell'anti-HCV ci

- sarebbe (109,110) e questa puo` conferire sicurezza alle preparazioni immunoglobuliniche nei confronti della trasmissione dell'epatite C;
- le preparazioni licenziate dall'FDA non trasmettono l'epatite NANB, nonostante ogni pool frazionato contenga il virus;
 - non e` detto che l'anti-HCV debba essere neutralizzante perche` possa migliorare la sicurezza dei plasmaderivati. Esso puo` contribuire alla rimozione del virus dal prodotto finale, semplicemente formando con il virus un complesso e modificandone le caratteristiche (per es. la carica elettrica e/o la solubilita`);
 - l'osservazione che nell'era pre-inattivazione si aveva la trasmissione dell'epatite, nonostante la presenza di anticorpi specifici nel pool di plasma, non significa che gli anticorpi non sono inattivanti, ma solo che la loro quantita` era insufficiente a neutralizzare la carica virale presente. Lo screening anti-HCV puo` produrre o nessun effetto o un effetto minimo nel ridurre la concentrazione del virus, ma puo` diminuire in modo sostanziale la quantita` di anticorpi. Questo puo` influire negativamente sulla sicurezza delle preparazioni immunoglobuliniche, nel procedimento di produzione delle quali non sono previste fasi di trattamento virucida.

IMPLICAZIONI NELLA PRATICA TRASFUSIONALE

Il nuovo test anti-HCV ha indubbiamente un ruolo molto importante nello screening delle donazioni di sangue, ma non va considerato come il test che consente di identificare tutti i portatori di virus C o come un test diagnostico per l'HCV. Il suo valore predittivo positivo, per il momento, sarebbe solo del 39% (111).

Ogni epatite NANB non puo` essere interpretata come un'epatite C. Questa denominazione va riservata solo ai casi di epatite con anticorpi anti-HCV. Negli altri casi e` opportuno conservare la denominazione di epatite NANB, perche` potrebbero essere in causa altri agenti etiologici virali ancora sconosciuti (non-A, non-B, non-C ?).

E' lecito aspettarsi, inoltre, numerose varianti di HCV nel mondo, con diversa patogenicita` e, forse, con diverse malattie correlate.

C'e` ancora molto da apprendere sulla storia naturale e sull'epidemiologia del virus, nonche` sulla preva-

lenza vera delle persone infette nella popolazione generale.

Purtroppo, il numero molto alto dei falsi positivi nei soggetti non a rischio mitiga l'entusiasmo iniziale dopo l'introduzione del test nell'attività trasfusionale. Inoltre, l'anti-HCV può produrre anche risultati falsamente negativi, che secondo prime stime si aggirerebbero intorno al 30% (111).

Cionostante il test, comunque, conserva tutto il suo valore nello screening delle donazioni e ci si aspetta che riduca del 50% l'attuale frequenza di trasmissione dell'HCV ai riceventi di sangue.

Poiché il 50% dei casi di epatite C acuta evolve spontaneamente verso la guarigione, una reattività anti-HCV può significare semplicemente una pregressa infezione. Ma le prime esperienze riferite in letteratura segnalano che le unità HCV positive nel 70-80% dei casi danno luogo a sieroconversione. Se ne deduce che il donatore deve essere avvertito della sua potenziale infettività.

Molte perplessità sono state espresse nel mondo scientifico su quale atteggiamento assumere con i donatori di sangue ripetutamente reattivi al test Elisa (112,113,114). Il test immunoenzimatico non svela il virus che causa l'epatite C ma gli anticorpi rivolti verso l'antigene virale C-100-3. Sono necessari, pertanto, test di conferma per escludere un risultato falsamente positivo.

La Ortho ha sviluppato un test di immunoblotting ricombinante (RIBA) per confermare l'anti-HCV, che impiega l'antigene C-100 ricombinante espresso nel lievito (come nell'Elisa) più una sub-sequenza di C-100, la 5-1-1, espressa nell'E. coli. Entrambi gli antigeni sono stati utilizzati per ricoprire bande distinte su strisce di nitrocellulosa (115).

Il risultato (reattivo, indeterminato o negativo), è letto confrontando il colore di una banda antigenica con i controlli positivi.

Il RIBA torna utile per differenziare i donatori di sangue infettanti da quelli non infettanti, perché la reattività per entrambi gli antigeni, e in particolare quella per l'antigene 5-1-1, è associata con l'infettività (115).

I laboratori Abbott hanno sviluppato un test di conferma col metodo della neutralizzazione, con il quale il 60% dei donatori ripetutamente reattivi sembra essere non infetto (111).

L'alta percentuale dei falsi positivi comporta una notevole dispersione di risorse per il sistema trasfu-

sionale, e un allarmismo ingiustificato tra donatori in buona salute.

Si ritiene, quindi, che sia corretto non notificare la reattività Elisa anti-HCV al donatore di sangue, fino a quando questa non sia stata sottoposta a conferma (111).

Secondo H. Alter (111), la notifica va eseguita se l'ALT nel siero è aumentata (anche senza test di conferma) e il donatore va inviato alla consulenza del gastroenterologo che dovrà sottoporlo alla biopsia epatica.

Ma i quesiti che attendono una risposta sono ancora molti. Per esempio, cosa dire ad un donatore circa la possibilità di trasmissione dell'infezione al partner sessuale? Il dilemma nasce da alcune segnalazioni contraddittorie in letteratura, secondo cui la trasmissione eterosessuale dell'HCV rivestirebbe un ruolo importante (116) o all'inverso trascurabile (40).

Altra questione non risolta è quella se esiste un "pattern" anticorpale diverso fra forma acuta e forma cronica dell'epatite C. Sappiamo che sono in corso studi presso la Chiron Corporation per individuare possibili altri marcatori della fase acuta dell'infezione da HCV.

Anche la finestra insolitamente lunga della sieroconversione anti-HCV (da 4 a 52 settimane, con una media di 22) pone grossi problemi al settore trasfusionale, perché donatori sieronegativi ma infettivi non vengono rilevati allo screening. Inoltre ci si chiede, come interpretare un donatore che si negativizza? E, ancora, il test anti-HCV può sostituire i test surrogati, ALT e anti-HBc?

Un protocollo per l'esclusione o la reintegrazione di donatori con ALT è stato proposto da Morgan e coll. (117)

Personalmente, non credo si possa condividere la scelta di reintegrare un donatore con aumento isolato dell'ALT, perché anche se sono presenti fattori aspecifici che possono giustificare l'aumento delle transaminasi, non si può mai essere certi di questa interpretazione.

Lo screening ALT mantiene inalterato il suo valore di test surrogato perché consente di identificare sia i donatori che si trovano nella fase "finestra", prima della sieroconversione, che quelli con risposte anticorpali aberranti non rilevabili con i test correnti, come pure quelli con epatiti NANB imputabili a virus diversi dall'HCV.

Per concludere, i dati sierologici di prevalenza fin

qui raccolti vanno interpretati con una certa cautela in assenza di test di conferma per le reazioni ripetutamente positive. La natura stessa dei reagenti offre una certa garanzia riguardo alla loro specificita', ma da osservazioni preliminari non piu' del 40% dei campioni provenienti da gruppi a bassa prevalenza (donatori di sangue) sarebbe confermato dai test di conferma. Nel caso di campioni provenienti da gruppi a rischio, invece, le conferme raggiungono il 98 %.

Gray e coll. (118) hanno proposto di migliorare la specificita' del test Elisa Ortho con una piccola modifica, quella di prevedere una fase di lavaggio con urea 8 mol/l, che serve a dissociare gli anticorpi non specifici, a bassa avidita' e con legami deboli, dall'antigene.

Ikeda e coll. (119) hanno suggerito che le reazioni non specifiche potrebbero essere correlate al componente superossido-dismutasi presente nell'antigene dell'Elisa Ortho.

E' opportuno sottolineare che ogni unita' di sangue anti-HCV positiva deve essere considerata come infettante, anche se il test anti-HCV non permette di accertare la reale infettivita' della stessa (120).

Sono stati descritti anche dei test sensibili per la ricerca dell'HCV RNA (121,122), che e' stato rilevato nel siero di scimpanze' sperimentalmente infettati, in assenza di anti-HCV.

Recentemente, Garson e coll. (123) hanno descritto una versione modificata della PCR, molto sensibile, per svelare sequenze di HCV RNA in campioni di siero, ed hanno osservato una buona correlazione fra la presenza di queste e l'infettivita' dei campioni. Nel loro studio alcune positivita' per l'HCV RNA persistevano per almeno 9 anni.

Questo genere di test, anche se nella forma presente non e' utilizzabile per screening di massa, potrebbe in futuro essere adattato allo screening delle donazioni di sangue, perche' sembra avere un valore predittivo di infettivita' migliore (123).

Bibliografia

- 1) GOLDFIELD M, BILL J, BLACK H et al. Hepatitis associated with transfusion of HBsAg-negative blood. In: VYAS GN, PERKINS HA, SCHMID R ed. Hepatitis and blood transfusion. New York, Grune and Stratton 1972, 353
- 2) FEINSTONE SM, KAPIKIAN AZ, PURCELL RH et al. Transfusion associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. N Engl J Med 1975, 292, 767
- 3) ALTER HJ. The dominant role of non-A, non-B in the pathogenesis of post-transfusion hepatitis: a clinical assessment. Clin Gastroenterol 1980, 9, 155
- 4) HOLLAN PV, ALTER HJ. Non-A, non-B viral hepatitis. Hum Pathol 1981, 12, 1114
- 5) SKIDMORE SJ, JONES TEG, BOXALL EH. Non-A, non-B hepatitis in patients receiving blood products. J Med Virol 1980, 6, 85
- 6) ROBINSON WS. The enigma of non-A, non-B hepatitis. J Infect Dis 1982, 145, 387
- 7) PAPAEVANGELOU G, FROSNER G, ECONOMIDOU J et al. Prevalence of hepatitis A and B infections in multiply transfused thalassaemic patients. Br Med J 1978, 1, 689
- 8) HOLLINGER FB, KHAN NC, OEFINGER PE et al. Post-transfusion hepatitis type A. JAMA, 1983, 250, 2313
- 9) PRINCE AM, BROTMAN B, GRADY GF et al. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B virus. Lancet 1974, II, 241
- 10) KORETZ RL, SUFFIN SC, GITNICK GL. Post-transfusion chronic liver disease. Gastroenterol 1976, 71, 797
- 11) SAMPLINER RE. Chronic non-A, non-B liver disease: need for diagnostic criteria and course definition. Arch Intern Med 1981, 141, 1581
- 12) TALEDA A, KIKUCHI K, NUMAZAKI Y et al. Non-B hepatitis in Japanese recipients of blood transfu-

- sions: clinical and serological studies after introduction of laboratory screening of donor blood for hepatitis B surface antigen. *J Infect Dis* 1979,139,511
- 13) BAMBER M, MURRAY A, ARBORGH BAM et al. Short incubation non-A, non-B hepatitis transmitted by factor VIII concentrates in patients with congenital coagulation disorders. *Gut* 1981, 22,854
 - 14) BRADLEY DW, MAYNARD JE, COOK EH et al. Non-A,non-B hepatitis in experimentally infected chimpanzees: cross-challenge and electron microscope study. *J Med Virol* 1980,6,185
 - 15) ALTER HJ, PRINCE AM. Transfusion-associated Non-A,Non-B hepatitis: an assessment of the causative agent and its clinical impact. *Transfus Med Rev* 1988,2,288.
 - 16) COURSAGET P, MAUPAS P, LEVIN P et al. Virus-like particles associated with non-A,non-B hepatitis. *Lancet* 1979,II,92
 - 17) TABOR E, SNOY P, JACKSON DR et al. Additional evidence for more than one agent of human non-A,non-B hepatitis; Transmission and passage studies in chimpanzees. *Transfusion* 1984, 24,24
 - 18) KERNOFF PBA, LEE CA, KARAYIANNIS P et al. High risk of non-A,non-B hepatitis after a first exposure to volunteer or commercial clotting factor concentrates: effects of prophylactic immune serum globulin. *Br J Haematol* 1985,60,469
 - 19) BROTMAN B, PRINCE AM, TELLEWO H. Non-A,non-B hepatitis. Is there more than a single blood-borne strain? *J Infect Dis* 1985,151,618
 - 20) HOOFNAGLE JH, FEINSTONE SM. Serological tests for non-A,non-B hepatitis: controversy. *Liver* 1981,I, 177
 - 21) HANTZ O, VITVITSKI L, TREPO C. Non-A,non-B hepatitis: identification of hepatitis-B-like virus particles in serum and liver. *J Med Virol* 1980,5,73
 - 22) NORKRANS G, FROSNER G, HERMODSSON S et al. Multiple hepatitis attacks in drug addicts. *JAMA* 1980,

243, 1056

- 23) SHIRACHI R, SHIRAISHI H, TATEDA A et al. Hepatitis "C" antigen in non-A,non-B post-transfusion hepatitis. Lancet 1978, II,853
- 24) Could "mutant" hepatitis E virus be diagnosed as non-A,non-B ?. Clinical Lab Letter 15/2/1989,26
- 25) BRECHOT C, DEGAS F, LUGASSY C et al. Hepatitis E virus DNA patients with chronic liver disease and negative tests for hepatitis B surface antigen. N Engl J Med 1985,312,270
- 26) WANDS JR, FUJITA YK, ISSELBACHER KJ et al. Identification and transmission of hepatitis b virus (HBV)-related variants. Hepatology 1985,5,431 (abstract)
- 27) SETO B, COLEMAN WG, IWARSON S et al. Detection of reverse transcriptase activity in association with the non-A,non-B hepatitis agent(s). Lancet 1984, II,941
- 28) IWARSON S, SCHAFF Z, SETO B et al. Retrovirus-like particles in hepatocytes of patients with transfusion-acquired non-A,non-B hepatitis. J Med Virol 1985,16, 37
- 29) SETO B, GERETY RJ. A glycoprotein associated with the non-A, non-B hepatitis agent(s): isolation and immunoreactivity. Proc Natn Acad Sci USA 1985,82, 4934
- 30) KABIRI M, TABOR E, GERETY RJ. Antigen-antibody system associated with non-A,non-B hepatitis detected by indirect immunofluorescence. Lancet 1979,II,221
- 31) TABOR E, MITCHELL FD, GOUDEAU AM et al. Detection of an antigen-antibody system in serum associated with human non-A, non-B hepatitis. J Med Virol 1979,4,161
- 32) CHIRCU LV, PEZZELLA M, LACAVA et al. Post-transfusion hepatitis: antigen/antibody systems correlated with non-A,non-B hepatitis. J Med Virol 1980, 6,147

- 33) SUH DJ, EDDLESTON ALWF, TSIQUAYE K et al. Specificity of an immunoprecipitin test for non-A,non-B hepatitis. *Lancet* 1981,I,178
- 34) GERETY RJ, TABOR E. Non-A,non-B hepatitis: Clinical,histologic and serologic studies in humans and chimpanzees. *Infection* 1979,7,208
- 35) VITVITSKI L, TREPO C, PRINCE AM et al. Detection of virus-associated antigen in serum and liver of patients with non-A,non-B hepatitis. *Lancet* 1979, II,1263
- 36) DIENSTAG JL. Non-A,non-B hepatitis. II Experimental transmission, putative virus agents and markers, and preventio. *Gastroenterol* 1983,85,743
- 37) BRADLEY DW. The agents of non-A,non-B viral hepatitis. *J Virol* 1985,10,307
- 38) CHOO Q-L, KUO G, WEINER AJ et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A,Non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989,244, 359
- 39) KUO G, CHOO Q-L, ALTER HJ et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human Non-A,Non-B hepatitis. *Science* 1989,244,362
- 40) ESTEBAN JL, ESTEBAN R, VILADOMIU L et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989,2,294
- 41) HCV - A NEW ERA IN HEPATITIS RESEARCH. Symposium on HCV. Roma 1989
- 42) VAN DER POEL CL, REESINK HW, LELIE PN et al. Anti-hepatitis C antibodies and non-A,non-B post-transfusion hepatitis on the Netherlands. *Lancet* 1989, 2,297
- 43) ROGGENDORF M, DEINHARDT F, RASSHOFER R et al. Antibodies to hepatitis C virus. *Lancet* 1989,2,324
- 44) KUHNL P, SEIDL S, STANGEL W et al. Antibody to hepatitis C virus in German blood donors. *Lancet* 1989, 2,324
- 45) STEVENS CE, TAYLOR PE, PINDYCK J et al. Epidemiology of hepatitis C virus. A preliminary study in

volunteer blood donors. JAMA 1990,263,49

- 46) COLOMBO M, OLDANI S, DONATO MF et al. A multicenter prospective study of post-transfusion hepatitis in Milan. Hepatology 1987,7,709
- 47) TREMOLADA F, LOREGGIAN M, ANTONA C et al. Blood-transmitted and clotting-factor-transmitted non-A, non-B hepatitis. Clinical differences and evolution. J Clin Gastroenterol 1988,10, 413
- 48) DIENSTAG JL. Non-A,non-B hepatitis, II: experimental transmission, putative virus agents and markers, and prevention. Gastroenterology 1983,25,743
- 49) REALDI G, ALBERTI A, RUGGE M et al. Long-term follow up of acute and chronic non-A,non-B post-transfusion hepatitis: evidence of progression to liver cirrhosis. Gut 1982,23,270
- 50) PURCELL RH. Round table discussion: non-A,non-B hepatitis. In: BIANCHI L, GEROCK W, SICKINGER K et al. Virus and the liver. Falk Symposium 28.Lancaster,England MTP Press 1980,119
- 51) CAREY WD. The evolving serology of viral hepatitis. Primary care 1981,8,251
- 52) WARE AJ, LUBY JP, HOLLINGER B et al. Etiology of liver disease in renal-transplant patients. Ann Intern Med 1979,91,364
- 53) GUPTA B, AGARWAL S, JOSHI VV. Maternal/fetal transmission of HBsAg negative hepatitis. Lancet 1978, II,740
- 54) PERRILLO RP, POHL DA, ROODMAN ST et al. Acute non-A,non-B hepatitis with serum sickness-like syndrome and aplastic anemia. JAMA 1981,245,494
- 55) ZELDIS JB, DIENSTAG JL, GALE RP. Aplastic anemia and non-A, non-B hepatitis. Am J Med 1983,74,64
- 56) GITNICK G. Non-A,non-B hepatitis: etiology and clinical course. Lab Med 1983,14,721
- 57) KHUROO MS. Study of an epidemic of non-A,non-B hepatitis: possibility of another human hepatitis virus distinct from post-transfusion non-A,non-B

- type. Am J Med 1980,68,818
- 58) REALDI G, TREMOLADA F, RUOL A. Epatite non-A, non-B. Rec Progr Med 1985,76,158
 - 59) ALTER HJ. Post-transfusion hepatitis: clinical features, risk and donor testing. In: DODD RY, BARKER LF ed. Infection, immunity and blood transfusion. AR LISS, 1985, 47
 - 60) BERMAN M, ALTER HJ, ISHAK KG et al. The chronic sequelae of non-A, non-B hepatitis. Ann Intern Med 1979,91,1
 - 61) RAKELA J, REDEKER AG. Chronic liver disease after acute non-A, non-B viral hepatitis. Gastroenterol 1979,77,1200
 - 62) SEEF LB, WRIGHT EC, ZIMMERMAN HJ et al. Posttransfusion hepatitis, 1973-1975: A Veterans Administration Cooperative Study. In: VYAS GN, COHEN SN, SCHMID R ed. Viral hepatitis: a contemporary assessment of etiology, epidemiology, pathogenesis and prevention. Philadelphia. Franklin Institute Press, 1978, 371
 - 63) AACH RD, LANDER JJ, SHERMAN LA et al. Post-transfusion hepatitis, 1973-1975: A Veterans Administration Cooperative Study. In VYAS GN, COHEN SN, SCHMID R ed. Viral hepatitis: a contemporary assessment of etiology, epidemiology, pathogenesis and prevention. Philadelphia. Franklin Institute Press, 1978, 371
 - 64) HOLLAND PV, BANCROFT W, ZIMMERMAN H. Post-transfusion viral hepatitis and the TTVs. N Engl J Med 1981,304,1033
 - 65) GOLDFIELD M, BILL J, COLOSIMO F. The control of transfusion-associated hepatitis. In: VYAS GN, COHEN SN, SCHMID R ed. Viral hepatitis: a contemporary assessment of etiology, epidemiology, pathogenesis and prevention. Philadelphia: Franklin Institute Press, 1978, 405
 - 66) ALTER HJ, PURCELL RH, HOLLAND PV et al. Donor transaminase and recipient hepatitis: impact on blood transfusion services. JAMA 1981,246,630

- 67) AACH RD, SZMUNESS W, MOSLEY JW et al. Serum alanine aminotransferase of donors in relation to the risk of non-A, non-B hepatitis in recipients: the Transfusion-Transmitted Viruses Study. *N Engl J Med* 1981,304,989
- 68) ANDERSON CC, CONTRERAS M, BARBARA JA et al. Surrogate testing for non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1987, I, 912
- 69) SHERMAN KE, DODD RY. The association of elevated ALT levels with genetically determined characteristics in a donor population. *Transfusion* 1981,21, 606
- 70) KHAN RA, JOHNSON G, AACH RD et al. The distribution of serum alanine aminotransferase levels in a blood donor population. *Am J Epidemiol* 1982,115, 929
- 71) KOZIOL DE, HOLLAND PV, ALLING DW et al. Antibody to hepatitis B core antigen as a paradoxical marker for non-A, non-B hepatitis agents in donated blood. *Ann Intern Med* 1986,104,488
- 72) GILLON J, HUSSEY AJ, HOWE SP et al. Post-transfusion non-A, non-B hepatitis: significance of raised ALT and anti-HBc in blood donors. *Vox Sang* 1988,54,148
- 73) Legge 592 del 14 luglio 1967. Regolamento di attuazione: DPR del 24 agosto 1971
- 74) TABOR E, HOOFNAGLE JH, SMALLWOOD LA et al. Studies of donors who transmit post-transfusion hepatitis. *Transfusion* 1979, 19,725
- 75) GITNICK GL, BREZINA ML, MULLEN RL. Application of alanine aminotransferase, carcinoembryonic antigen, and cholyglycine levels to the prevention and evaluation of acute and chronic hepatitis. In: VYAS GN, COHEN SN, SCHMID R ed. *Viral hepatitis: a contemporary assessment of etiology, epidemiology, pathogenesis and prevention*. Philadelphia. Franklin Institute Press, 1978,431
- 76) MISHLER JM, BARBOSA L, MIHALKO LJ et al. Serum bile acids and alanine aminotransferase concentrations: comparison of efficacy as indirect means of

- identifying carriers of non-A,non-B hepatitis agents and of onset,severity and duration of post-transfusion non-A,non-B hepatitis in recipients. JAMA 1981, 246,2340
- 77) VYAS GN, PERKINS H. Non-B post-transfusion hepatitis associated with hepatitis B core antibodies in donor blood. N Engl J Med 1982,306,749
- 78) RAKELA J, MOSLEY JW, AACH RD et al. Viral hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. Gastroenterol 1980,78,1318
- 79) POLESKY HF, HANSON MR. Transfusion-associated hepatitis C virus (non-A,non-B) infection. Arch Pathol Lab Med 1989,113, 232
- 80) SUGG U, SCHENZLE D, HESS G. Antibodies to hepatitis B core antigen in blood donors screened for alanine aminotransferase level and hepatitis non-A,non-B in recipients. Transfusion 1988,28,386
- 81) AYMARD JP, JANOT C, GAYET S et al. Post-transfusion non-A, non-B hepatitis after cardiac surgery. Vox Sang 1986,51,236
- 82) HOYOS M, SARRION JB, PEREZ-CASTELLANOS T et al. Markers for non-A,non-B hepatitis. Ann Intern Med 1986,105,467
- 83) HANSON MR, POLESKY HP. Evaluation of routine anti-HBc screening of volunteer blood donors: a questionable surrogate test for non-A,non-B hepatitis. Transfusion 1987,27,107
- 84) SCHMIDT PJ, LEPARC GF, SAMIA CT. Comparison of assays for anti-HBc in blood donors. Transfusion 1988,28,389
- 85) GONZALEZ A, ESTEBAN JI, VILADOMIU L et al. Lack of efficacy of surrogate marker testing for preventing NANB postransfusion hepatitis in a prospective randomized and controlled study. International Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston, 4-8 Aprile 1990, abstract 480
- 86) REPORT OF THE PROCEEDINGS - First International Symposium Hepatitis C virus. September 14-15, 1989

Rome

- 87) JETT BW, SHIH JW, GENESCA J et al. Antibody to hepatitis C virus and surrogate markers for non-A, non-B hepatitis. International Symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston 4-8 April 1990. Abstract 484
- 88) ITO S, TAKAOTA T, MORI H et al. A new method for measurement of guanase with 8-azaguanine bicine bis hydroxy ethyl glycine buffer as substrate. Clin Chim Acta 1981,115,135
- 89) ITO S, TAKAOTA T, ARIMA T et al. Trial diagnostic test kit for the determination of guanase activity using 8-azaguanine solution in dotite bicine buffer as substrate. Asean J Clin Sci 1981,2,283
- 90) ITO S, TSUJI Y, KITAGAWA N et al. The relationship between the guanase activity of donor blood and incidence of post-transfusion hepatitis. Hepatology 1986,6,990
- 91) ITO S, TSUJI Y, KITAGAWA N et al. Clinical value of the guanase Screening test in donor blood for prevention of post-trasfusional non-A, non-B hepatitis. Hepatology 1988,8,383
- 92) KNODELL RG, CONRAD ME, ISHAK KG. Development of chronic liver disease after acute non-A, non-B post-transfusion hepatitis: role of gammaglobulin prophylaxis in its prevention. Gastroenterol 1977, 72,902
- 93) AACH RD, LANDER JJ, SHERMAN LA et al. Transfusion-transmitted viruses. In: VYAS GN, COHEN SN, SCHMID R ed. Viral hepatitis. Philadelphia. Franklin Institute Press, 1978,383
- 94) SEEF LB. Prospects for prevention of non-A, non-B hepatitis. New York. Academic Press 1981,271
- 95) AGIUS C, TUPPER B, GARCIA G et al. Ortho HCV antibody Elisa test system for the detection of antibodies to hepatitis C (Non-A, non-B hepatitis) virus: USA clinical trials data. In: First International Symposium Hepatitis C virus. September 14-15, 1989 Rome

- 96) SIRCHIA G, ALMINI D, BELLOBUONO A et al. Prevalence of anti-HCV antibodies in Italian blood donors. First International Symposium Hepatitis C virus. September 14-15, 1989 Rome
- 97) FAGAN EA, ELLIS DS, TOVEY GM et al. Virus-like particles in liver in sporadic non-A, non-B fulminant hepatitis. J Med Virol 1989, 27, 76
- 98) MAKRIS M, PRESTON FE, TRIGER DR et al. Hepatitis C antibody and chronic liver disease in haemophilia. Lancet 1990, 335, 1117
- 99) NOEL L, GUEROIS C, MAISONNEUVE P et al. Antibodies to hepatitis C virus in haemophilia. Lancet 1989, 2, 560
- 100) PRESTON FE, HAY CRM, DEWAR MS et al. Non-A, non-B hepatitis and heat-treated factor VIII concentrates. Lancet 1985, 2, 213
- 101) COLOMBO M, MANNUCCI PM, CARNELLI V et al. Transmission of non-A, non-B hepatitis by heat-treated factor VIII concentrate. Lancet 1985, 2, 1
- 102) KERNOFF PBA, MILLER EJ, SAVIDGE GF et al. Reduced risk of non-A, non-B hepatitis after exposure to "wet-heated" factor VIII concentrate. Br J Haematol 1987, 67, 207
- 103) MANNUCCI PM, SCHIMPF K, BRETTLER DB et al. Hepatitis C virus is not transmitted by a high-purity, pasteurized factor VIII concentrate. In: First International Symposium Hepatitis C virus. Abstr. September 14-15, 1989. Rome
- 104) MAISONNEUVE P, GUEROIS C, NOEL L et al. Anti-HCV antibodies in French hemophiliacs only substituted with factor-VIII SD concentrates. In: First International Symposium Hepatitis C virus. Abstr. September 14-15, 1989. Rome
- 105) SKIDMORE SJ, PASI KJ, MAWSON SJ et al. Use of anti-HCV in assessing the safety of clotting factor concentrates. In: First International Symposium Hepatitis C virus. Abstr. September 14-15, 1989. Rome
- 106) LUDLAM CA, CHAPMAN D, COHEN B et al. Antibodies

- to hepatitis C virus in haemophilia. Lancet 1989, 2,560
- 107) HABIBI B, GARRETTA M. Screening for hepatitis C virus antibody in plasma for fractionation. Lancet 1990,335,855
- 108) FINLAYSON JS, TANKERSLEY DL. Anti-HCV screening and plasma fractionation: the case against. Lancet 1990,335,1274
- 109) SEEF LB, ZIMMERMAN HJ, WRIGHT EC et al. A randomized, double blind controlled trial of the efficacy of immune serum globulin for the prevention of post-transfusion hepatitis. Gastroenterology 1977,72,111
- 110) SANCHEZ-QUJIANO A, PINEDA JA, LISSEN E et al. Prevention of post-transfusion non-A,non-B hepatitis by non-specific immunoglobulin in heart surgery patients. Lancet 1988,1,1245
- 111) . Blood bank officials hope donor altruism will pass new (anti-HCV) test. JAMA 1990,263,1749
- 112) CASH JD, McCLELLAND DBL, URBANIAK SJ et al. Screening for hepatitis C virus antibody. Lancet 1989,2,505
- 113) CONTRERAS M, BARBARA JAJ. Screening for hepatitis C virus antibody. Lancet 1989,2,505
- 114) FLEGG PJ. Ethics of screening for hepatitis C virus. Lancet 1989,2,1221
- 115) EBELING F, NAUKKARINEN R, LEIKOLA J. Recombinant immunoblot assay for hepatitis C virus antibody as predictor of infectivity. Lancet 1990,335,982
- 116) ALTER MJ, COLEMAN PJ, ALEXANDER J et al. Importance of heterosexual activity in the transmission of hepatitis B and Non-A,Non-B hepatitis. JAMA 1989,262,1201
- 117) MORGAN C, HYLAND C, YOUNG IF. Hepatitis C antibody and transaminase activities in blood donors. Lancet 1990,335,921
- 118) GRAY JJ, WREGHITT TG, FRIEND PJ et al. Differen-

- tiation between specific and non-specific hepatitis C antibodies in chronic liver disease. Lancet 1990,335,609
- 119) IKEDA Y, TODA G, HASHIMOTO N et al. Antibody to superoxide dismutase, autoimmune hepatitis, and antibody tests for hepatitis C virus. Lancet 1990, 335,754
- 120) hepatitis C virus upstanding. Lancet 1990,335,1431
- 121) WEINER AJ, KUO G, BRADLEY DW et al. Detection of hepatitis C viral sequences in non-A,non-B hepatitis. Lancet 1990,1,335
- 122) KANEKO S, UNOURA M, KOBAYASHI K et al. Detection of serum hepatitis C virus RNA. Lancet 1990,335, 976
- 123) GARSON JA, TEDDER RS, BRIGGS M et al. Detection of hepatitis C viral sequences in blood donations by "nested" polymerase chain reaction and prediction of infectivity. Lancet 1990,335,1419

INFEZIONE DA HCV
Problemi attuali e prospettive

F. Bonino

Divisione di Gastroenterologia, Ospedale di San Giovanni Battista e della Città di Torino "Molinette", Corso Bramante 88 - 10126 Torino.

Da una attenta osservazione delle analogie e differenze che esistono tra il virus dell'Epatite C (HCV) e gli altri virus epatitici si possono trarre alcune utili indicazioni per comprendere i problemi attuali e individuare nuove prospettive di studio. In queste righe ho puntualizzato alcune osservazioni e problematiche che mi paiono utili nella pratica medica quotidiana.

Il virus dell'epatite C eluse per anni le ricerche di tutti i più autorevoli ricercatori che utilizzarono per identificarlo le metodiche che avevano permesso la scoperta degli altri virus epatitici. Per questi virus furono dapprima identificati sistemi antigene/anticorpo, caratterizzati da anticorpi sierici e da antigeni circolanti o intraepatocitari. Successivamente l'uso di questi indicatori virali permise la caratterizzazione della particella virale e dell'acido nucleico. La scoperta del virus dell'epatite C ha richiesto invece l'uso della tecnologia degli acidi nucleici. La clonazione degli acidi ribonucleici estratti da un siero altamente infettivo (fino alla diluizione di 1/1.000.000 nello scimpanzé) permise l'espressione di un antigene virale e l'identificazione di un anticorpo antivirale.

Successivamente è stato clonato e sequenziato

l'intero genoma del virus. Rimangono però sconosciute le proteine strutturali della particella virale e l'HCV non è stato ancora fotografato al microscopio elettronico in quanto non è stato sinora possibile individuare o produrre anticorpi neutralizzanti o immunoprecipitanti in grado di concentrare specificamente il virus.

L'HCV circola nel sangue a concentrazioni modeste (livelli almeno mille volte più bassi di quelli del virus dell'epatite B) e la risposta immunologica anti-HCV è significativamente meno evidente di quella contro gli altri virus epatitici.

L'HCV assomiglia al virus della febbre gialla (YFV, della famiglia dei Flavivirus) e ad alcuni membri della famiglia dei Pestivirus. Questi sono virus a RNA che causano febbri emorragiche, epatite o encefalite e vengono trasmessi mediante mosche e zanzare. La loro strategia di replicazione prevede la sintesi di una serie di proteine strutturali e non strutturali a partire da un'unica poliproteina sintetizzata per mezzo di un solo RNA messaggero. Nei soggetti infettati non sono mai state trovate forme subgenomiche di mRNA o trascritti di DNA. Dal mRNA, che rappresenta l'intero genoma virale, una RNA polimerasi RNA dipendente produce copie di RNA a polarità negativa che a loro volta fungono da matrice per la nuova progenie di RNA virale. Nel virus della febbre gialla la proteina non strutturale NS1 rappresenta un antigene capace di fissare il complemento ed è importante per la lisi delle cellule infettate. Non è noto il ruolo della corrispondente proteina nell'infezione da HCV. Un altro dato interessante che ci viene dalla conoscenza dei meccanismi di infezione del virus della febbre gialla è il tropismo elevato del virus per i macrofagi e l'effetto esaltante sulle capacità infettive esercitate da alcuni anticorpi neutralizzanti che possono addirittura favorire

l'ingresso del virus nel macrofago nel caso di reinfezione anziché proteggere dall'infezione come nel caso dell'HBV. Il tipico andamento a riacutizzazioni intervalate a remissioni temporanee dell'epatite Non A Non B richiama alla mente le infezioni di virus rapidamente mutageni che eludono il sistema immune variando continuamente l'espressione dei loro antigeni e producono viremie remittenti. L'andamento naturale della malattia e la risposta all'interferone così diversi da quelli dell'epatite cronica da HBV, notoriamente un virus non citotossico ci suggeriscono che il danno epatico indotto dall'HCV potrebbe anche essere prevalentemente citotossico e non immunomediato e rivelarsi prevalentemente in occasioni delle poussee replicative.

La proteina C-100 prodotta nel lievito è estremamente idrofobica e la sequenza di genoma del virus della febbre gialla corrispondente (regione NS4) codifica per una proteina che ha una forte affinità per le membrane cellulari. Il significato biologico degli anticorpi diretti contro questa proteina è per ora ignoto. Certamente gli anticorpi anti-C-100 non possono essere neutralizzanti la particella virale in quanto la proteina non fa parte della struttura del virione. Tuttavia se si considera che la risposta anticorpale è a basso titolo ed è diretta contro una proteina non strutturale, prodotta durante la replicazione virale si può ritenere l'anticorpo anti-C-100 come un utile indicatore di infezione e indirettamente di attiva replicazione virale. Il titolo di tale anticorpo è infatti estremamente più basso di quelli degli anticorpi anti antigeni strutturali di altri virus epatitici (HAV, HBV, HDV). Questa ipotesi è suffragata da un nostro recente studio condotto su pazienti con epatite cronica Non A,

Non B post-trasfusionale. La maggioranza dei pazienti positivi per l'anticorpo anti-HCV avevano sequenze di acido nucleico virale (HCV-RNA, determinato mediante PCR) nel fegato e nel siero.

La determinazione dell'anticorpo anti-HCV (anti-C-100) può presentare risultati falsamente positivi in quanto un legame aspecifico di una qualsiasi gammaglobulina umana sul fondo del pozzetto può essere rivelato dalla reazione colorimerica in modo aspecifico. Il numero di falsi positivi varia considerevolmente in funzione delle condizioni e del tempo di conservazione del siero ed è molto elevato nei sieri sottoposti a riscaldamento o più volte scongelati. Nella nostra esperienza la ripetizione del test su un altro campione di siero del paziente risultato positivo costituisce un semplice test di conferma della specificità. Esiste un test di conferma recentemente messo a punto dalla Chiron Corporation: il RIBA-HCV Test System. Il test è immunoenzimatico: su una striscia di nitrocellulosa sono presenti tre antigeni ricombinanti: il C-100 e il 5-1-1, entrambi legati alla superossidodismutasi, e la superossidodismutasi umana (SOD) da sola. La SOD è presente come controllo per determinare l'eventuale presenza di anticorpi anti-SOD. L'incubazione della striscia con il siero e la colorazione sono simili al test Elisa. La persistenza dell'anti-C-100 ha valore prognostico in quanto l'anticorpo permane nelle epatiti Non A, Non B che evolvono in malattia cronica, mentre invece tende a scomparire quando l'infezione e la malattia guariscono. Perciò l'anti-HCV può essere utilizzato come test prognostico nel follow-up dei pazienti.

La determinazione dell'acido nucleico virale non sembra rivestire grande utilità clinica. Richiede

infatti la metodica della PCR disponibile solo presso laboratori specializzati. Inoltre la viremia è fluttuante e nel caso del singolo paziente può essere invariabilmente presente o assente indipendentemente dalla presenza o meno di anti-C-100 nel siero. Perciò nella pratica clinica disponiamo per ora di soli marcatori di infezione da HCV. L'esistenza di possibili portatori sani del virus rende evidente la difficoltà di porre una diagnosi precisa di epatite cronica da HCV in un paziente con infezione da HCV e malattia di fegato. Infatti la malattia potrebbe essere causata da un altro fattore e il paziente potrebbe essere un portatore sano di HCV. È verosimile che si possa disporre presto di un test immunoistochimico per la localizzazione diretta del virus nel fegato e di nuovi tests in grado di determinare la presenza di più anticorpi sierici diretti contro diverse proteine virali. Magari l'identificazione di anticorpi neutralizzanti potrà perfino farci vedere questo virus schivo e sfuggente. Inoltre la miglior conoscenza della patogenesi di questo virus dovrebbe presto farci identificare un indicatore preciso del danno epatico da esso indotto.

Nel corso di un'epatite acuta l'anti-C-100 compare tardivamente. È auspicabile quindi che i tests che determineranno anticorpi diretti contro le diverse proteine virali permettano una più precoce diagnosi di epatite da HCV.

Infine l'HCV appare come il maggiore responsabile dell'epatite Non A Non B post-trasfusionale però è facilmente ipotizzabile che esistano altri virus epatitici, sicuramente esiste un virus cloroformio resistente trasmissibile nello scimpanzé.

In conclusione molte sono le aspettative delle future conoscenze in tema di infezione da HCV. È

evidente che l'HCV è un virus completamente differente dagli altri virus epatitici noti. Pensare di ricalcarne pedestremente il modello sia nella pratica diagnostica che nella ricerca potrebbe rilevarsi erroneo e controproducente. Il challenge della novità completa è però ancora più stimolante.

BIBLIOGRAFIA

1. Alter H.J., Holland P.V., Purcell R.H., et al. Post-transfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis B antigen positive donors. *Ann. Intern. Med.* 1972; 77: 691-699.
2. Alter H.J., Purcell R.H., Holland P.V., Alling D.W., Koziol D.E. Donor transaminase and recipient hepatitis: impact on blood transfusion services. *JAMA* 1981; 246: 630-634.
3. Stevens C.E., Aach R.D.E., Hollinger F.B., et al. Hepatitis B virus antibody in blood donors and the occurrence of Non-A, Non-B hepatitis in transfusion recipients: an analysis of the Transfusion-Transmitted Viruses Study. *Ann. Intern. Med.* 1984; 101: 733-738.
4. Aach R.D., Szmunes W., Mosley J.W., et al. Serum alanine aminotransferase of donors in relation to the risk of Non-A, Non-B hepatitis in recipients: the Transfusion-Transmitted Viruses Study. *N. Engl. J. Med.* 1981; 304: 989-994.
5. Koziol D.E., Holland P.V., Alling D.W., et al. Antibody to hepatitis B core antigen as a paradoxical marker for Non-A, Non-B hepatitis agents in donated blood. *Ann. Intern. Med.* 1986; 104: 488-495.
6. Purcell R.H., Alter J.H., Dienstag J.L. Non-A, Non-B hepatitis. *Yale J. Biol. Med.* 1976; 79: 243-250.

7. Bradley D.V., Maynard J.E. Etiology and natural history of post-transfusion and enterically transmitted Non-A, Non-B hepatitis. *Seminars in Liver Disease* 1986; 6: 56-66.
8. McCaul T.F., Tsiquaye K.N., Tovey G., Bird R.G., Zuckerman A.J. Application of electron microscopy to the study of structural changes in the liver in Non-A, Non-B hepatitis. *J. Virol. Method.* 1982; 4: 87-106.
9. Dienes H.P., Purcell R.H., Popper H., Bonino F., Ponzetto A. Simultaneous infection of chimpanzees with more than one hepatitis virus. *Hepatology* 1981; 1: 506.
10. Popper H., Dienstag J.L., Feinstone S.M., Alter H.J., Purcell R.H. Lesson from the pathology of viral hepatitis in chimpanzees. In: Bianchi L, Gerok W, Sickinger K, Stalder GA (ed): *Virus and the liver*. HTP Press, Lancaster, PA, 1980; 137.
11. Verme G., Amoroso P., Lettieri G., Pierri P., David E., Sessa F., Rizzi R., Bonino F., Recchia S., Rizzetto M. A histological study of hepatitis delta virus liver disease. *Hepatology* 1986; 6: 1303-1307.
12. Bonino F., Baldi M., DeMartini A. Delta and Non-A, Non-B hepatitis viruses. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1988; 7: 327-336.
13. Choo Q-L., Kuo G., Weiner A.J., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. *Science*, 1989; 244: 359-362.

14. Kuo G., Choo Q-L., Alter H.J., et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human Non-A, Non-B hepatitis. *Science*, 1989; 244: 362-364.
15. Alter H.J., Purcell R.H., Shih J.W., et al. Detection of antibody of hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic Non-A, Non-B hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 1989; 321: 1494-1500.
16. Yoshizawa H., Itoh Y., Iwakiri S., et al. Demonstration of two different types of Non-A, Non-B hepatitis by reinjection and cross-challenge studies in chimpanzees, *Gastroenterology* 1981; 81: 107-113.
17. Mosley J.W., Redeker A.G., Feinstone S.M., Purcell R.H. Multiple hepatitis viruses in multiple attacks of acute viral hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 1977; 296: 75-78.
18. Bradley D.W., Maynard J.E., Popper H., et al. Post-transfusion Non-A, Non-B hepatitis: physicochemical properties of two distinct agents. *J. Infect. Dis.* 1983; 148: 254-265.
19. Bellobuono A., Giovannetti A.M., Parravicini A., Almini D., Pizzi M., Zanuso F., Silvani C., Contino G., Castoldi A., Sirchia G. Un sistema ospedaliero per prevenire l'epatite post-trasfusionale. *Ligand Quarterly.* 1990; 9, 1: 41-46.

20. Bradley D.W., Maynard J.E., Cook E.H., et al. Experimental infection of chimpanzees with antiemophilic (factor VIII) materials: recovery of virus-like particles associated with Non-A, Non-B hepatitis. *J. Med. Virol.* 1979; 3: 253-254.
21. Weiner A.J., Kuo G., Bradley D.W., Bonino F., et al. Detection of hepatitis C viral sequences in Non-A, Non-B hepatitis. *Lancet* 1990; 335: 1-3.
22. Saracco G., Brunetto M.R., Oliveri F., Rosina F., et al. Hepatitis C virus, a major cause of Non-A, Non-B post-transfusion hepatitis (PT-NANBH) in Italy. *Ital. J. Gastroenterol.* 1989; 23: 95.
23. Esteban J.I., Esteban R., Viladomiu L. et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989; 5: 294-296.
24. Alter M.J., Coleman P.J., Alexander W.J. et al. Importance of heterosexual activity in the transmission of hepatitis B and Non-A, Non-B hepatitis. *Jama* 1989; 262, 9: 1201-1205.
25. Fortuny C., Ercilla M.G., Barrera J.M. et al. HCV vertical transmission. Prospective study in infants born to HCV seropositive mothers. The 1990 international symposium on viral hepatitis and liver disease. Houston 1990. Abstract 438.

26. Brunetto M.R., Kuo G., Saracco G., Oliveri F., et al. Prevalence of antibody to hepatitis C virus (HCV) in patients with chronic hepatitis B virus (HBV), hepatitis D virus (HDV) infections and with hepatocellular carcinoma. Ital. J. Gastroenterol. 1989; 23: 95.

27. Crivelli O., Lavarini C., Chiaberge E. et al. Microsomal autoantibodies in chronic infections with the HBsAg associated delta agent. Clin. Exp. Immunol. 1984; 54: 232-238.

*Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità
e Responsabile scientifico: Francesco Antonio Manzoli*

Direttore responsabile: Vilma Alberani

*Stampato dal Servizio per le attività editoriali
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Roma, settembre 1990 (n.3)

*La responsabilità dei dati scientifici e tecnici
pubblicati nei Rapporti e Congressi ISTISAN è dei singoli autori*